



**You have downloaded a document from
RE-BUS
repository of the University of Silesia in Katowice**

Title: Projektowanie i synteza fenyloetynylofenylo-azometyn o potencjalnych zastosowaniach w analityce oraz farmacji

Author: Sandra Senkała

Citation style: Senkała Sandra. (2020). Projektowanie i synteza fenyloetynylofenylo-azometyn o potencjalnych zastosowaniach w analityce oraz farmacji. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Uniwersytet Śląski
Instytut Chemii
Zakład Chemii Organicznej

mgr Sandra Senkała

**Projektowanie i synteza fenyloetynylofenylo-azometyn
o potencjalnych zastosowaniach w analityce
oraz farmacji**

Rozprawa doktorska

**Promotor pracy:
prof. dr hab. inż. Jarosław Polański**

**Promotor pomocniczy:
dr inż. Mateusz Korzec**

Katowice 2020

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania:

Prof. dr hab. inż. Jarosławowi Polańskiemu, za wszelką pomoc udzieloną w trakcie przygotowywania niniejszej pracy a zwłaszcza za cenne uwagi merytoryczne;

Dr inż. Mateuszowi Korzec, za nieocenione wsparcie zarówno w pracy laboratoryjnej jak i podczas pisania pracy;

Pracownikom Katedry Biologii Komórki Uniwersytetu Jagiellońskiego za wykonane badania biologiczne;

Pracownikom Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN, za badania termiczne i elektrochemiczne oraz wykonanie analizy elementarnej;

Prof. dr hab. Janowi Grzegorzowi Małeckiemu, za obliczenia DFT.

Chciałabym również podziękować ***Rodzinie*** oraz ***Przyjaciołom***, za nieustanne wsparcie oraz pomoc w każdym momencie.

Niniejszą pracę dedykuję ***Moim Najbliższym***.

Spis treści

STRESZCZENIE.....	5
ABSTRACT.....	6
1. CEL PRACY	7
2. CZĘŚĆ LITERATUROWA.....	9
2.1. Azometiny (iminy)	9
2.1.1. Klasyfikacja i budowa chemiczna	9
2.1.2. Metody otrzymywania	11
2.1.3. Zastosowanie azometin w syntezie organicznej	14
2.1.4. Zastosowanie azometin jako barwników	16
2.1.5. Inne przykłady zastosowania azometin	17
2.1.6. Właściwości biologiczne	18
2.1.7. Trwałość azometin w środowisku wodnym	20
2.2. Związki z układem fenylotynylofenylowym	22
2.3. Iminowe pochodne resweratrolu (IRAs)	23
2.3.1. Budowa IRAs	23
2.3.2. Właściwości biologiczne IRAs.....	25
2.4. Znaczenie miedzi dla człowieka i środowiska	26
2.4.1. Przegląd metod wykrywania i oznaczania miedzi w wodzie	29
3. OMÓWIENIE WYNIKÓW.....	33
3.1. Wprowadzenie	33
3.2. Synteza aldehydów aromatycznych z układem etynylowym lub 1,3-diynowym.....	34
3.3. Synteza azometin	36
3.3.1. Badanie różnych metod otrzymywania azometin.....	36
3.3.2. Otrzymywanie azometin heterocyklicznych z użyciem katalizatorów.....	40
3.3.3. Otrzymywanie azometin z układem fenylotynylofenylowym.....	42
3.4. Obliczenia DFT.....	46
3.5. Elektrochemiczne właściwości związków.....	49
3.6. Właściwości termiczne azometin	51
3.7. Właściwości optyczne azometin	52
3.8. Właściwości kompleksujące iminowego analogu resweratrolu (IRA).....	59
3.8.1. Wizualne wykrywanie jonów miedzi w środowisku wodnym.....	60

3.8.1.1. Badanie wpływu środowiska na oznaczenie miedzi	63
3.8.1.2. Badanie selektywności metody.....	65
3.8.1.3. Badanie wpływu stężenia miedzi na oznaczanie	66
3.8.1.4. Oznaczanie miedzi w próbce wody	67
3.8.2. Fluorescencyjne oznaczanie jonów miedzi w acetonitrylu	69
3.9. Właściwości biologiczne iminowego analogu resweratrolu (IRA)	71
3.10. Potencjalne wykorzystanie badanych imin jako sond miedzi w układach biologicznych	73
4. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	76
4.1. Odczynniki	76
4.2. Urządzenia.....	76
4.3. Synteza aldehydów z układem etynylowym lub diynowym	77
4.3.1. Synteza 4-(2-fenylloetynylo)benzaldehydu	77
4.3.2. Próby otrzymania 4-(4-fenyllobuta-1,3-diyn-1-yl)benzaldehydu	77
4.3.2.1. Synteza 1-bromo-2-fenylloacetylenu.....	77
4.3.2.2. Synteza p-acetylenobenzaldehydu	78
4.3.2.3. Synteza 4-(4-fenyllobuta-1,3-diyn-1-yl)benzaldehydu	79
4.4. Synteza azometin	81
4.4.1. Przegląd metod otrzymywania azometin	81
4.4.2. Otrzymywanie azometin z układem fenylloetynylofenylowym.....	84
4.4.3. Analiza aktywności katalizatorów heterogenicznych w układzie modelowym	85
4.4.3.1. Poszukiwania efektywnego katalizatora	85
4.4.3.2. Badanie aktywności 5% Pd/Cu	86
4.5. Badania fizykochemiczne w roztworze	88
4.5.1. Badania właściwości optycznych azometin.....	88
4.5.2. Badanie właściwości kompleksujących pochodnej IRA.....	89
4.5.2.1. Wykrywanie miedzi w środowisku wodnym.....	90
4.5.2.2. Oznaczenie miedzi w acetonitrylu	93
5. PODSUMOWANIE.....	95
6. Bibliografia	97
7. Dorobek Naukowy.....	109
MATERIAŁY UZUPEŁNIAJĄCE.....	112
PUBLIKACJE	121

STRESZCZENIE

Celem pracy było projektowanie i synteza związków azometinowych zawierających układ fenyloetynylofenylowy oraz badania właściwości fizykochemicznych tj. optycznych, elektrochemicznych i termicznych. W szczególności badano właściwości chelatujące oraz biologiczną aktywność iminowego analogu resweratrolu (IRA).

Otrzymywanie związków azometinowych do dzisiaj stanowi istotne wyzwanie syntetyczne. Obecna praca stanowi studium otrzymania azometinowych pochodnych z układem fenyloetynylofenylowym. Przetestowano szereg różnych metod syntezy, obejmujących również wykorzystanie katalizatorów heterogenicznych. Wykonane badania w układzie modelowym wykazały, że zastosowanie katalizatora w postaci SiO_2 pod działaniem ultradźwięków pozwala na wydajną kondensację aminy z 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydem. Metodą tą przeprowadzono szereg kondensacji 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydu z różnymi aminami. Przeprowadzone eksperymenty dowodzą, że istotnym problemem jest wydzielenie i oczyszczanie uzyskiwanych produktów z mieszaniny reakcyjnej. W niniejszym studium z powodzeniem w czystej formie otrzymano 5 związków iminowych. Strukturę otrzymanych związków potwierdzono metodą ^1H i ^{13}C NMR a czystość określono analizą elementarną. Następnie dla tych związków wykonano badania optyczne (absorpcja i fotoluminescencja w roztworze), elektrochemiczne, termiczne (TG, DSC) oraz obliczenia DFT. Badania optyczne w różnych rozpuszczalnikach wykazały, że wszystkie pochodne w rozpuszczalnikach organicznych nie wykazują fluorescencji, natomiast w środowisku wodnym widoczny jest jej wzrost. Wykazano, że wzrost ten związany jest z hydrolizą azometin, gdzie uwolniony fluorogeny aldehyd (4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehyd) ulega agregacji. Podatność związków na hydrolizę potwierdza powstanie aldehydu w obecności wody (^1H NMR). Jeden z otrzymanych związków jest iminowym analogiem resweratrolu (IRA), który stanowi przedmiot zainteresowania współczesnej farmacji i medycyny. Dla pochodnej IRA wykonano szczegółowe badania właściwości kompleksujących w różnych rozpuszczalnikach (acetonitryl, woda) względem: Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} i Zn^{2+} oraz badania cytotoksyczności względem komórek raka prostaty. Badania właściwości kompleksujących pochodnej 2b wykazały dużą selektywność kompleksowania względem jonów Cu(II) zarówno w acetonitrylu jak i w wodzie. Rozszerzenie tych badań pozwoliło na opracowanie układu do selektywnego oznaczania miedzi w próbce rzeczywistej wody. Obserwowany efekt oraz opracowana metoda oznaczania miedzi może być podstawą dalszych prac zmierzających do opracowania nowych sond miedzi o potencjalnie dużym znaczeniu w diagnostyce takich schorzeń jak nowotwory prostaty czy cukrzyca. Ponadto wykonano badania aktywności biologicznej IRA (2b), o-aminofenolu (substrat) oraz kompleksu Cu(II)-2b względem komórek raka prostaty. Wykazano, że tylko 2b przejawiał istotny efekt cytotoksyczny, pomimo częściowej hydrolizy prezentowanych związków. Świadczy to o kluczowym znaczeniu nierozłożonej azometiny dla jej właściwości cytotoksycznych.

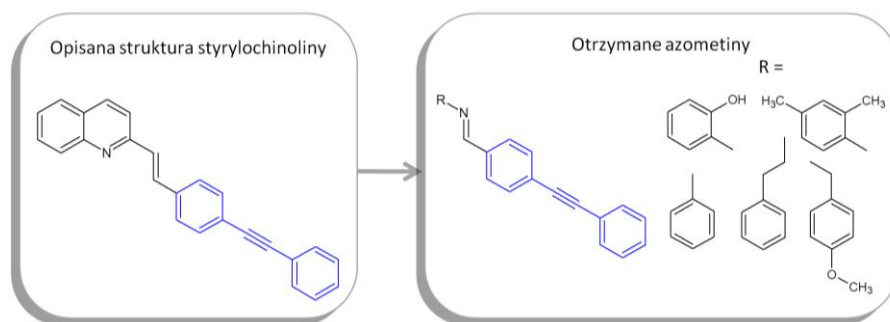
ABSTRACT

The goal of this study was to design and synthesize azomethine analogues containing a phenylethynylphenyl function and to study their physicochemical properties, in particular, optical, electrochemical and thermal in a search for potential application in pharmacy and analytical chemistry. In particular, we focused on the new analog of resveratrol (IRA) carefully testing its chelating properties as well as biological activity.

In particular, different synthetic methods were tested to obtain phenylethynylphenyl azomethine derivatives. This included also heterogeneous catalysis. The tests performed in the model system have shown that the use of silica catalyst under ultrasound conditions allows for the efficient condensation of the amine with 4-(2-phenylethynyl)-benzaldehyde. Accordingly, a series of condensations with various amines have been carried out using this method. Separation and purification problems have been encountered in this method. The structures of five imino analogues that were successfully obtained in a pure form were confirmed by ^1H and ^{13}C NMR. Purity was determined by elemental analysis. Then, optical (absorption and photoluminescence in solution), electrochemical, thermal (TG, DSC) measurements as well as DFT calculations were performed for these compounds. Optical measurements in various solvents have shown that all derivatives do not show fluorescence in organic solvents, whereas in water fluorescence effect could be observed. It has been shown that this effect is associated with azomethine hydrolysis. Accordingly the concentration of the released fluorogenic aldehyde (4-(2-phenylethynyl)-benzaldehyde) increases. The susceptibility of compounds to hydrolysis was tested by ^1H NMR. This shows a formation of aldehyde in a system under the addition of water. One of the obtained compounds is an imine analogue of resveratrol (compound 2b). First, the complexing properties of 2b in various solvents (acetonitrile, water) were tested for: Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} and Zn^{2+} . Next, the biological activity of this compound on prostate cancer cells was verified. The studies of the complexing properties of the 2b derivative have shown a high selectivity of the compound against Cu(II) ions in acetonitrile or water. The extension of this research allowed for the development of a system for the selective determination of copper in tap water. Biological activity of IRA (2b), o-aminophenol (substrate) and the Cu (II) -2b complex against prostate cancer cells were studied. It was shown that only 2b showed a significant cytotoxic effect despite partial hydrolysis of the presented compounds. Therefore, the presence of undecomposed azomethine is crucial for cytotoxic properties of compound 2b.

1. CEL PRACY

Celem pracy doktorskiej była synteza azometin zawierających układ fenyloetynylofenylowy (Rys. 1) oraz badanie właściwości termicznych, elektrochemicznych oraz optycznych w poszukiwaniu nowych związków o potencjalnych aplikacjach w farmacji i chemii analitycznej. Zakres pracy obejmował próby kondensacji heteroaromatycznych amin z 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydem w obecności różnych katalizatorów heterogenicznych. Spośród otrzymanych azometin szczególnie interesująca jest pochodna z podstawnikiem o-aminofenylowym (związek 2b), która jest przykładem iminowego analogu resweratrolu, należącego do grupy związków o znaczącej aktywności biologicznej. Zakres badań obejmował określenie właściwości kompleksujących 2b względem różnych jonów, takich jak: Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+} w acetonitrylu i w PBS oraz aktywności biologicznej względem linii prawidłowych fibroblastów skóry ludzkiej (HSF) oraz linii komórkowej raka prostaty (DU145). W pracy zwrócono uwagę na znaczenie hydrolizy azometin pod wpływem wodny względem wykazywanych właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych. W związku z podatnością azometin na hydrolizę, profil aktywności biologicznej określono dla związku 2b, substratu (o-aminofenolu) oraz kompleksu Cu(II)-2b.



Rys. 1 Opisana struktura styrylochinoliny i jej analogi w postaci azometin z układem fenyloetynylofenylowym.

Wybór tej grupy związków podyktowany był wcześniejszymi badaniami prowadzonymi w grupie prof. Polańskiego [1], w których opisano pochodne styrylochinolin zawierające charakterystyczny układ fenyloetynylofenylowy, jako barwniki fluorescencyjne do obrazowania struktur biologicznych (Rys. 1). Z tego punktu widzenia badany układ

azometinowy stanowi aza-analog struktur opisanych wcześniej. Brak toksyczności, której towarzyszyła akumulacja barwnika w błonie komórkowej wpłynęły na wybór tej struktury jako struktury wiodącej do dalszych poszukiwań nowych analogów tego typu związków.

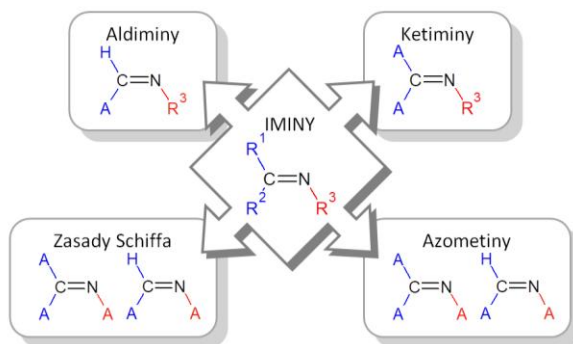
2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

2.1. Azometyny (iminy)

Wiązanie iminowe ($C=N$) jest ugrupowaniem azotowych związków organicznych określanych jako azometyny lub zasady Schiffa [2]. Ze względu na interesujące właściwości biologiczne oraz proste metody syntezy, związki te stanowią przedmiot zainteresowań wielu grup badawczych [3,4]. Posiadają szeroki wachlarz aktywności biologicznej, wykazując właściwości przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybiczne, przeciwwirusowe, przeciwgorączkowe, przeciwmalaryczne oraz przeciwgruźlicze. Często stosowane są jako pigmenty, katalizatory, barwniki, półprodukty oraz stabilizatory polimerów [3]. Kompleksowanie metali przejściowych jest jedną z najważniejszych właściwości imin [5]. Zważywszy na rozpowszechnienie w literaturze nazwy „azometyny” w dalszej części pracy stosowana będzie właśnie ta nazwa.

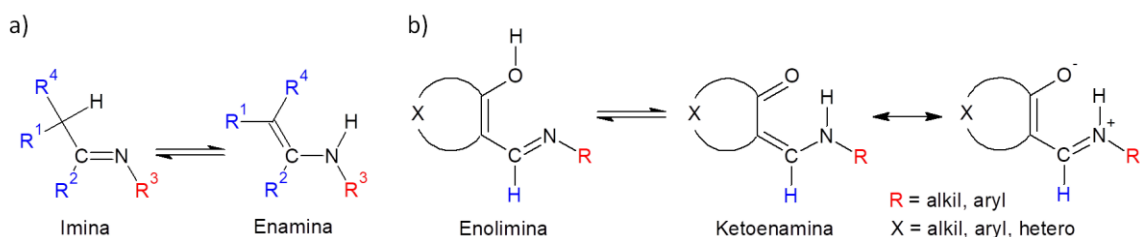
2.1.1. Klasyfikacja i budowa chemiczna

Iminy przedstawiane są w formie $R^1R^2C=NR^3$ gdzie grupami R są wodór, alkile, aryle lub heteroaryle. Zależnie od podstawników iminy można podzielić na: aldiminy $R^1=H$, ketiminy $R^1R^2\neq H$, azometyny $R\neq H$ lub $R^1=H$, $R^2R^3\neq H$, zasady Schiffa $R\neq H$ lub $R^1=H$, $R^2R^3\neq H$. (Rys. 2). Azometyny i zasady Schiffa uważane są często jako synonimy. Co więcej istnieją związki, w których grupy R^1 i R^2 tworzą cykliczne układy [2,4,6]. Strukturalnie podobnymi związkami są hydrazony $R^3=NR_2$ oraz oksymy $R^3=OH$, które pomimo podobieństwa nie należą jednak do imin [7].



Rys. 2 Ogólna klasyfikacja imin [2,4,6]. Legenda: A = alkile, aryle; R = alkile, aryle lub wodór.

Wiele z tych związków może ulegać tautomerii iminowo-enaminowej (*Rys. 3a*) [2,8] lub podlegać zmianom związanym z wewnątrzcząsteczkowym przeniesieniem protonu między enolimina (OH) a ketoenamina (NH) (*Rys. 3b*) [9]. Położenie równowagi przemian protonotropowych azometin zależy od wartości ΔpK_a ($\Delta pK_a = pK_a(NH) - pK_a(OH)$), przy jej wzroście równowaga stopniowo przesuwana się w stronę tautomeru NH. Dodanie konkretnych podstawników do struktury azometin może powodować przesunięcie równowagi w stronę jednej z form tautomerycznych, w wyniku zmiany kwasowości grupy fenolowej lub zasadowości atomu azotu [10]. Najczęściej używaną eksperymentalną metodą badania tych równowag jest spektroskopia NMR. Dzięki analizie przesunięć chemicznych i stałych sprzężenia możliwe jest oszacowanie molowego udziału poszczególnych tautomerów (NH) i (OH). Ponadto wykorzystuje się również inne metody takie jak spektrofotometria absorpcyjna, spektroskopia w podczerwieni, spektrometria mas oraz rentgenowska spektroskopia fotoelektronowa. Rodzaj dominującego tautomeru silnie zależy od struktury, ale również od stanu skupienia czy zastosowanego rozpuszczalnika. Z powodu silnych wiązań wodorowych obecnych w strukturach krystalicznych dominującym tautomerem w ciele stałym jest najczęściej enolimina. W przypadku cieczy częściej przeważa forma ketoenaminowa, co jest efektem osłabienia wiązań wodorowych [11].

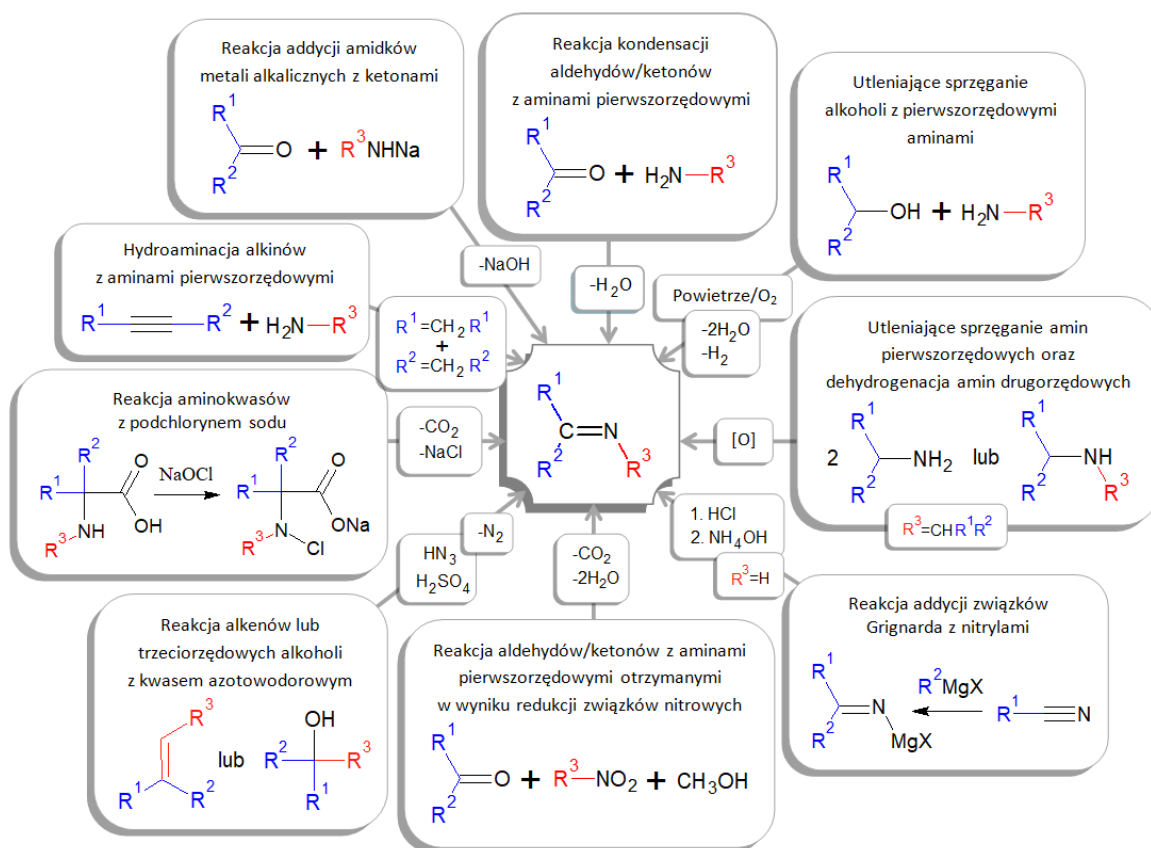


Rys. 3 Zmiany tautomeryczne azometin [8,11].

Azometiny to związki głównie krystaliczne i nierozpuszczalne w wodzie [4]. Za sprawą grupy iminowej będącej ugrupowaniem chromoforowym, związki te charakteryzują się intensywną barwą żółtą, pomarańczową lub czerwoną [12]. Wykazują słabe właściwości zasadowe. W roztworach wodnych szczególnie kwaśnych ulegają hydrolizie z wytworzeniem aminy oraz związku karbonylowego. Natomiast w roztworach o odczynie alkalicznym azometiny wykazują większą trwałość [4].

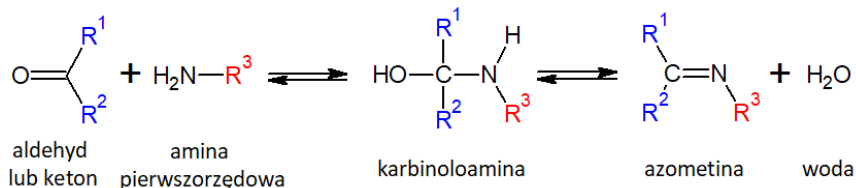
2.1.2. Metody otrzymywania

W 1864 roku niemiecki chemik Hugo Schiff odkrył i opracował jedną z pierwszych metod syntezy azometin, która polegała na kondensacji amin pierwszorzędowych z związkami karbonylowymi (aldehydami lub ketonami). Zaprojektowana przez Schiffa reakcja prowadzona była w warunkach destylacji azeotropowej [3]. Opisanych jest wiele innych metod syntezy tych związków, gdzie stosowane są różne reagenty a reakcje mogą być prowadzone w różnych środowiskach (Rys. 4) [3,7,8].



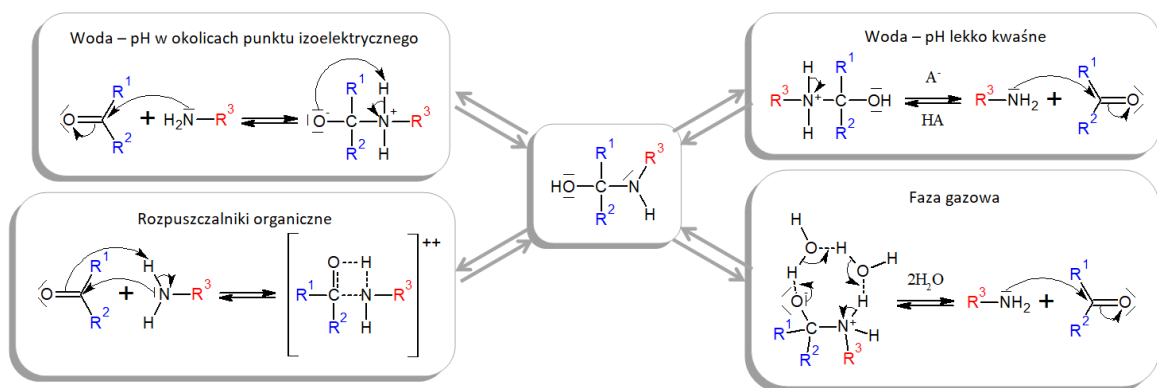
Rys. 4 Metody otrzymywania azometin [3,7,8].

Kondensacja amin pierwszorzędowych z związkami karbonylowymi jest reakcją dwuetapową. W reakcji wydzielą się woda, która może sprzyjać reakcji odwrotnej, czyli hydrolizie imin (Rys. 5) [3,13].

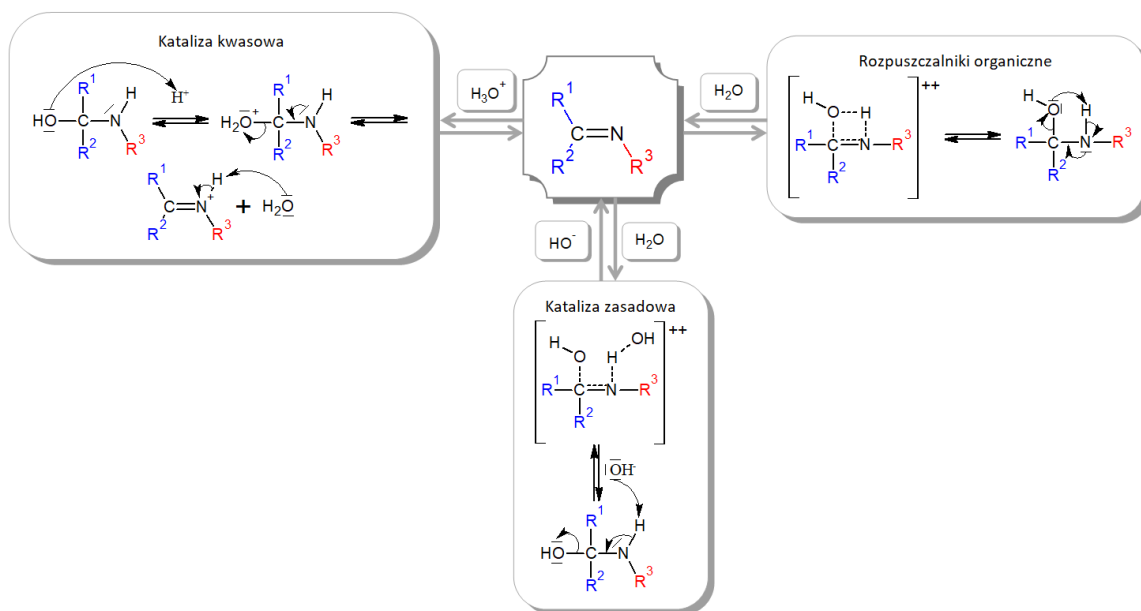


Rys. 5 Reakcja amin pierwszorzędowych z aldehydem lub ketonem [13].

Pierwszy etap polega na nukleofilowej addycji aminy do grupy karbonylowej. Na mechanizm tej reakcji wpływ mają: rozpuszczalnik oraz pH środowiska (Rys. 6). W rozpuszczalnikach organicznych tworzy się czterocząłonowy cykliczny stan przejściowy, umożliwiając bezpośrednie przeniesienie protonu z atomu azotu na atom tlenu. Ponadto rozpuszczalnik bardziej polarny przyspiesza tę reakcję. Natomiast w środowisku wodnym mechanizm zależny jest od pH. Tworzący się stan przejściowy może mieć ładunek dodatni w przypadku lekko kwaśnego pH (karbokation) lub być w stanie obojętnym przy pH w okolicach punktu izoelektrycznego [14]. Drugim etapem jest eliminacja cząsteczki wody, która katalizowana jest przez dodatek kwasu lub zasady (Rys. 7). Najczęściej stosuje się lekko kwaśne środowisko reakcji. Z uwagi na właściwości zasadowe amin stężenie kwasu nie może być zbyt wysokie, gdyż protonowane aminy tracą właściwości nukleofilowe (równowaga reakcji przesuną się w stronę substratów) [13].

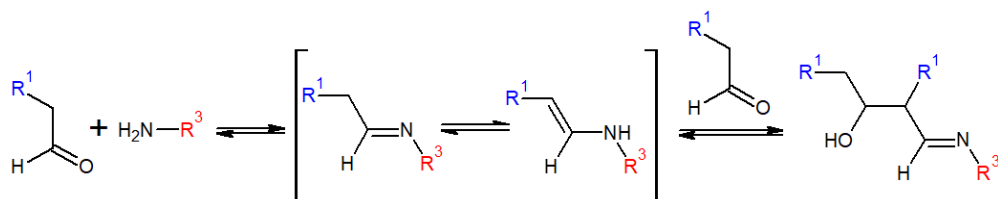


Rys. 6 Etap I - addycja nukleofilowa aminy do grupy karbonylowej z wytworzeniem karbinoloaminy [14].



Rys. 7 Etap II - eliminacja cząsteczki wody [13,14].

Odwracalności reakcji może narażać wiele problemów w syntezie. Co więcej użycie aldehydu alifatycznego skutkuje konkurencyjną reakcją kondensacji iminy z aldehydem (Rys. 8) [8]. Równowagowa reakcja łatwo ulega fluktuacjom zależnym od wielu czynników związanych ze środowiskiem reakcji (pH środowiska, temperatura, stężenie, rozpuszczalnik) oraz budową reagentów (efekty steryczne i elektronowe) [7]. Wydajność syntezy zależna jest od nukleofilowości używanych amin oraz elektrofilowości związków karbonylowych [3].



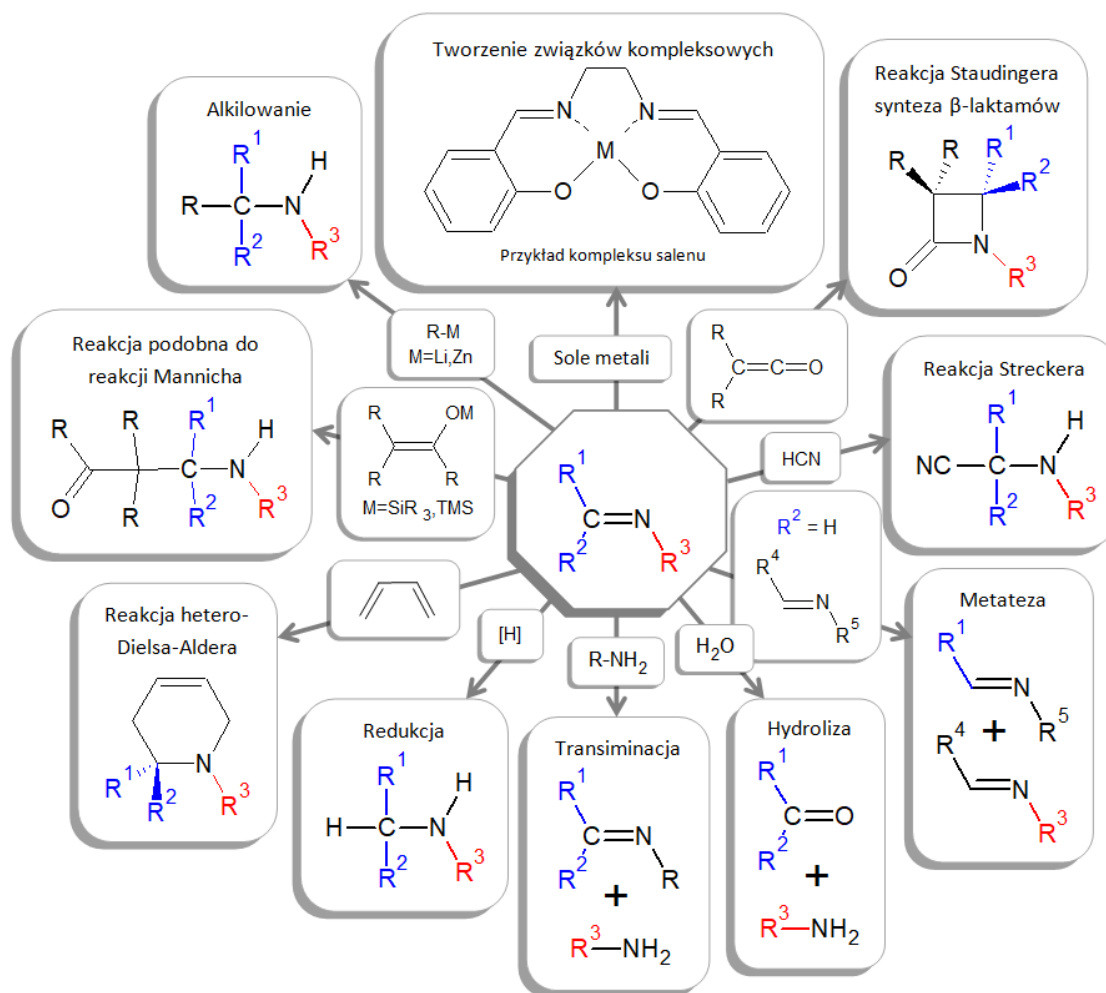
Rys. 8 Reakcja kondensacji iminy z aldehydem alifatycznym [8].

Trudności w syntezie rozwiązuje się często poprzez zastosowanie wyższych temperatur, wydłużenie czasu reakcji czy usuwanie tworzącej się wody [3,8]. Powstającą wodę możemy usuwać poprzez zastosowanie aparatu Deana Starka, środków suszących (SiO₂, sita molekularne) a także odwadniających rozpuszczalników jak ortomrówczan trimetylu - CH(OCH₃)₃ oraz tetrametoksylan - Si(OCH₃)₄. Wykorzystanie katalizatorów

kwasowych jest kolejnym sposobem poprawy niskiej wydajności i szybkości syntezy. Katalizatory kwasowe mają za zadanie protonować grupę hydroksylową karbinoloaminy w celu eliminacji cząsteczki wody oraz aktywować grupę karbonylową na atak nukleofila. Katalizatorami mogą być kwasy Lewisa lub Brønsteda-Lowry'ego, np.: HCl, NaCl, SnCl₄, ZnCl₂, CeCl₃*H₂O, TiCl₄, TiO₂, Ti(OR)₄, Er(OTf)₃, BF₃, H₂SO₄, NaSO₄, NaHSO₄*SiO₂, MgSO₄, CuSO₄, Cu(NO₃)₂, Mg(ClO₄)₂, NaHCO₃, CH₃COOH [3,7,8,15]. Najnowsze metody syntezy azometin obejmują wykorzystanie ultradźwięków, promieniowania mikrofalowego, ultrafioletowego czy podczerwonego. Techniki te można stosować wraz z katalizatorami lub środkami osuszającymi. Ponadto opisano syntezę w układach bezrozpuszczalnikowych oraz w cieczy jonowej [bmim]BF₄ [3,7,15]. Korzystanie z nowych technik przynosi wiele korzyści, jak duża szybkość reakcji, wysoka selektywność i wydajność, łagodniejsze warunki reakcji, niewielki koszt, łatwe wydzielenie produktu oraz mała ilość zanieczyszczeń [15].

2.1.3. Zastosowanie azometin w syntezie organicznej

Azometiny uczestniczą w wielu reakcjach, takich jak: addycja, cykloaddycja, redukcja czy kondensacja (Rys. 9) [3,7,8]. Związki te są elektrofiliami, dlatego też najczęstszą reakcją jest addycja nukleofilowa. Są jednak słabszymi elektrofiliami w porównaniu do związków karbonylowych. Obecność wodoru w pozycji α sprzyja redukcji lub tautomeryzacji do enamin [16]. Azometiny tworzą bardzo stabilne związki kompleksowe z metalami grup przejściowych. W swojej strukturze zawierają często kilka atomów elektrodonorowych, co umożliwia zastosowanie ich w postaci ligandów chelatujących jak i jednofunkcyjnych. Donorami są głównie atomy azotu grupy iminowej [13] oraz grupy znajdujące się w jej pobliżu np.: grupy hydroksylowe i tiolowe [17] lub związki heteroaromatyczne jak pirydyna [7].



Rys. 9 Reakcje azometin [3,8,14,16].

Z uwagi na obecność dwóch różnych donorów azometiny mogą wykazywać dwa przeciwne efekty elektronowe, atomy tlenu grupy fenolowej stabilizują wyższy stopień utlenienia a atom azotu grupy iminowej stabilizują niższy stopień utlenienia atomów centralnych [18]. Zdolność azometin do kompleksowania różnych metali o różnym stopniu utlenienia znajduje szczególne zastosowanie w katalizie homogenicznej oraz heterogenicznej [5,17]. Aktywność kompleksów azometin bywa różna, zależna w dużej mierze od rodzaju ligandu i jonu metalu, jak również od miejsc koordynacji. Kompleksy ligandów chiralnych charakteryzują się większą selektywnością [5]. Atrakcyjność tych katalizatorów polega na taniej i prostej syntezie oraz stabilności termicznej i chemicznej tych związków. Stosowane są w wielu reakcjach, głównie do utlenienia różnych związków organicznych. Możemy wyszczególnić następujące reakcje:

- utleniania alkoholi do odpowiednich związków karbonylowych lub kwasów karboksylowych – np.: kompleks Ru(II) z pochodną aldehydu salicylowego i 2-aminotiofenolu,
- utleniania siarczków do sulfotlenków,
- utleniania olefin – np.: kompleks Mo(VI) z pochodną 2,2'-dimetylopropylenodiaminy i aromatycznych aldehydów [5,17],
- utleniania alkanów – np.: kompleksy Co(II), Fe(III) i Ru(III) z pochodną hydroksybenzaldehydu [19],
- epoksydacji alkenów – np.: kompleksy wanadu(IV) z ligandem N-salicylideno-2-bromoetyloiminą oraz dwutlenku molibdenu(VI) z pochodną 1,2-diaminocykloheksanu i aldehydu salicylowego,
- polimeryzacji np.: etylenu – kompleksy Fe(III) lub Co(II) z związkami pirydynowymi, epoksydów – kompleksy salenu,
- uwodornienia/redukcji ketonów do alkoholi – chiralne kompleksy Rh, Ir i Ru z pochodnymi bipirydyny [4,5],
- reakcji aldolowej – chiralny kompleks Al(III) z pochodną salenu,
- redukcji chlorku tionylu – np.: kompleksy Co(II), Cu(II) i Ni(II) z pochodnymi naftyrydyn [5].

2.1.4. Zastosowanie azometin jako barwników

Ugrupowanie iminowe (C=N) odpowiada za charakterystyczne właściwości optyczne tych związków (np.: luminescencję), co często wykorzystywane jest w analityce [12]. Właściwości azometin mogą ulegać zmianie wskutek zaburzeń równowagi przemian tautomerycznych enolimin i ketoenamin. Na równowagę wpływa zastosowany rozpuszczalnik (solwatochromizm) a także w niektórych przypadkach temperatura (termochromizm) oraz naświetlanie (fotochromizm). Polarne rozpuszczalniki przesuwają równowagę tautomeryczną w kierunku form ketoenaminowych, które posiadają zwykle większy moment dipolowy niż forma enoliminowa. Fakt ten powoduje pojawienie się dodatkowego pasma absorpcji w okolicach 400nm. Podobne zmiany w widmach

absorpcyjnych możemy obserwować podczas zmiany temperatury niektórych związków będących zarówno w ciele stałym jak i w roztworze. Z reguły obniżanie temperatury lub naświetlanie azometin w postaci krystalicznej powoduje zwiększenie zawartości formy ketoenaminowej odpowiedzialnej za wzrost intensywności zabarwienia związku [11]. Interesującym zjawiskiem są nieliniowe właściwości optyczne niektórych kompleksów azometin, takich jak kompleksy różnych metali z azometiną pochodzącą z kondensacji tiosemikarbazonów z o-hydroksybenzaldehydem. Zaobserwowano silną zależność pomiędzy konfiguracją elektronową metalu centralnego a nieliniowymi właściwościami optycznymi [19].

Związki azometinowe i ich kompleksy są często stosowane jako barwniki o szerokiej gamie kolorów. Różnorodność barw obserwujemy szczególnie w przypadku związków, które mogą kompleksować różnego rodzaju jony metali [20]. Barwniki azometinowe stosowane są do barwienia skór, wełny oraz opakowań na żywność (kompleksy chromu i kobaltu) [5,19] a ponadto włókien syntetycznych i acetatu (materiału składającego się z octanu celulozy). Znajdują również zastosowanie w fotografii do zmniejszania światłoczułości emulsji fotograficznych [4]. Poprzez wykazywany przez nich fotochromizm pełnią rolę fotostabilizatorów, barwników do kolektorów słonecznych lub filtrów słonecznych [21] oraz mogą być wykorzystane do budowy przełączników aktywności optycznych lub chemosensorowych [11].

2.1.5. Inne przykłady zastosowania azometin

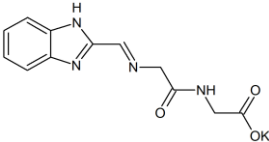
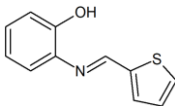
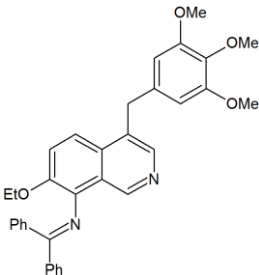
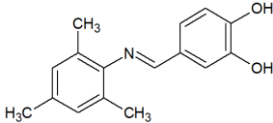
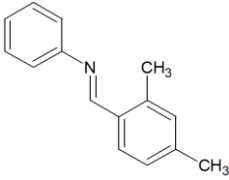
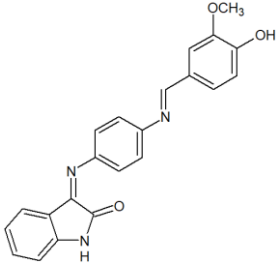
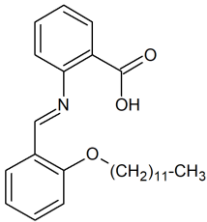
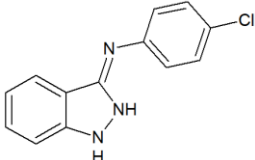
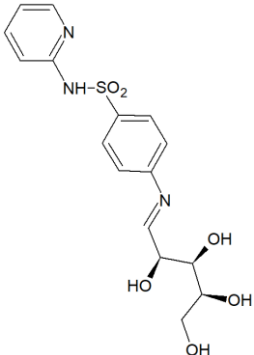
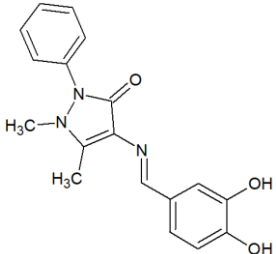
Azometiny ze względu na tworzenie stabilnych i selektywnych kompleksów z różnymi jonami metali stosowane są jako nośniki kationów w czujnikach potencjometrycznych [21]. Jednym z ciekawych zastosowań azometin jest wykorzystanie ich jako inhibitorów korozji miedzi i aluminium [12], których działanie opiera się na tworzeniu pojedynczej warstwy na chronionej powierzchni [21]. Azometiny ulegające tautomerycznym zmianom wywołanym wewnątrzcząsteczkowym przeniesieniem protonu mogą być wykorzystywane w elektronice, jako przełączniki molekularne optycznych technologii zapisu [11]. Niektóre azometiny występują w postaci ciekłych kryształów. Przykładami takich związków są pochodne N-benzylidenoaniliny [2].

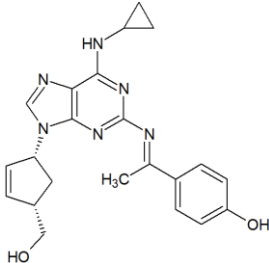
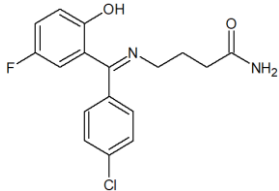
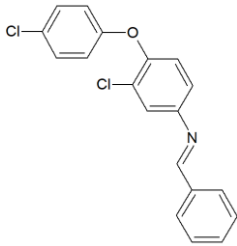
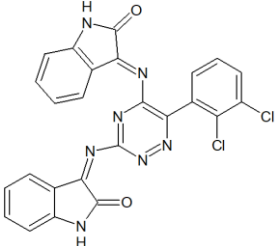
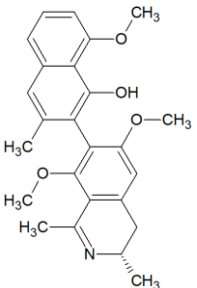
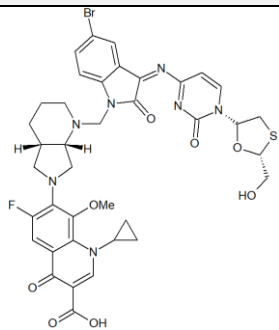
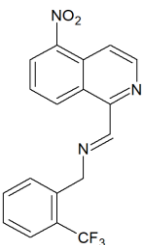
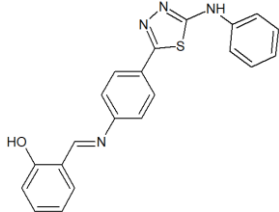
2.1.6. Właściwości biologiczne

Istnieje wiele doniesień na temat terapeutycznych zastosowań azometin jako potencjalne leki czy sondy diagnostyczne i analityczne. Szeroki zakres aktywności biologicznej azometin obejmuje właściwości przeciwnowotworowe, przeciwgrzybiczne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwgorączkowe, przeciwzapalne, przeciwdrgawkowe, przeciwmalaryczne oraz przeciwgruźlicze (Tabela 1). Dla wielu naturalnych i syntetycznych związków grupa iminowa jest niezbędna do ich biologicznego działania [3,6,8,22]. Uważa się, że jest to spowodowane tworzeniem wiązań wodorowych pomiędzy grupą iminową a centrami aktywnymi składników komórki [18]. Badania wpływu struktury azometin na ich aktywności biologiczną wykazały, że szerokie spektrum właściwości biologicznych i farmakologicznych zdeterminowane jest często obecnością pierścieni heterocyklicznych. Azometiny biorą udział w ważnych procesach biologicznych, takich jak reakcje enzymatyczne [23], aldolazy i aminotransferazy [4], transaminacja, glikacja białek [8], fotosynteza, transport tlenu w organizmach [19,21], proces widzenia (pigment siatkówki rodopsyna) oraz metabolizm węglowodanów [6].

Tabela 1 Przykłady związków aktywnych biologicznie należące do grupy azometin.

Przeciwgrzybiczne	Przeciwbakteryjne
<p>Odznaczają się wysoką aktywnością przeciwko grzybom z rodzaju Kropidlak: <i>Aspergillus niger</i>, <i>Aspergillus clavatus</i> [23].</p>	<p>W wyniku hamowania aktywności ureazy wykazuje aktywność przeciwko <i>Helicobacter pylori</i> [22].</p>
<p>Wykazuje aktywność przeciw grzybom <i>Microsporum audouinii</i> i <i>Gyphaea</i> oraz hamuje rozwój <i>Candida albicans</i>, <i>Aspergillus niger</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i>, <i>Histoplasma capsulatum</i> [8].</p>	<p>Iminowa pochodna Aloinu wykazuje silną aktywność wobec pałeczki okrężnicy, gronkowca złocistego, pałeczki zapalenia płuc oraz pałeczki ropy błękitnej [23].</p>

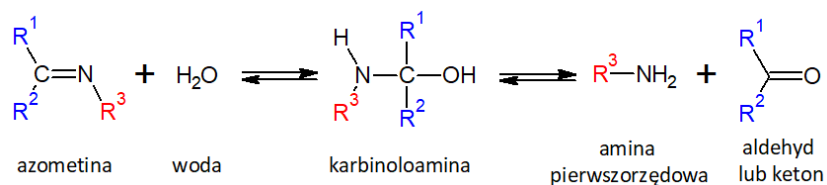
Przejawia aktywność przeciwgrzybom Kropidlak czarny <i>Aspergillus niger</i> [24].		Hamuje wzrost pałeczki brzusznego <i>Salmonella typhi</i> [24].	
Przeciwnowotworowe		Przeciwzapalne/Przeciwbólowe	
W wyniku hamowania polimeryzacji tubuliny pochodna izochinoliny przejawia aktywność przeciwko komórkom białaczki (K562) [22].		Oxphalin – lek przeciwzapalny, inhibitor lipooksygenazy [12].	
Pochodne N-benzylidenoaniliny wykazują cytotoksyczność wobec komórek ludzkiego raka płuc (A549) i ludzkiego raka szyjki macicy (HeLa) [6].		Pochodna iminowa izatyny wykazuje silniejszą aktywność przeciwbólową niż standardowy lek przeciwbólowy pentazocyna [4].	
Wykazuje aktywność cytotoksyczną (in vitro) wobec komórek nowotworowych wątroby (HEPG2), piersi (HCF7) i okrężnicy (HCT116) [23].		Wykazuje dobrą aktywność przeciwzapalną wobec pałeczki okrężnicy a ponadto posiada wysoką aktywność przeciwbólową [23].	
Wykazuje działanie cytotoksyczne względem komórek raka piersi (MCF7) i komórek raka szyjki macicy (HeLa) [23].		Silny środek przeciwzapalny oraz przeciwutleniacz, hamuje stymulację COX-2 wywołaną przez lipopolisacharyd [25].	

Przeciwwirusowe		Przeciwpadaczkowe/Przeciwdrgawkowe	
Pochodna iminowa abakawiru wykazuje dużą skuteczność przeciwko ludzkiemu wirusowi niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) [8].		Progabid – lek przeciwpadaczkowy, agonista receptorów GABA-ergicznych [12].	
Jest dobrym inhibitorem ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) [25].		Iminowa pochodna izatyny i Lamotryginy wykazuje lepsze działanie przeciwdrgawkowe niż standardowy lek Lamotrygina [25].	
Przeciwmalaryczne		Przeciwgruźlicze	
Ancistrocladidine - wytwarzany przez rośliny <i>Ancistrocladaceae</i> oraz <i>Dioncophyllaceae</i> , wykazuje aktywność przeciw pierwotniakowi zarodziec sierpowaty [3].		Działanie przeciwko prątkom gruźlicy H37RV [22].	
Pochodne 5-nitroizochinoliny przejawiają aktywność przeciw odpornemu na chlorochinę pierwotniakowi zarodziec sierpowaty [8].		Hamuje wzrost bakterii prątka gruźlicy [23].	

2.1.7. Trwałość azometin w środowisku wodnym

Azometiny w roztworach wodnych ulegają częściowej bądź całkowitej hydrolizie z wytworzeniem aminy oraz aldehydu/ketonu (*Rys. 10*) [2,4]. Hydroliza azometin uważana jest za jedną z najbardziej znaczących reakcji w wielu procesach farmakologicznych i biologicznych [26]. Hydroliza jest reakcją odwrotną w stosunku do reakcji syntezy azometin. Mechanizm tej reakcji przebiega podobnie jak w przypadku syntezy łącznie

z katalizą kwasową (Podrozdział 2.1.2.). Pierwszym etapem jest addycja nukleofilowa cząsteczki wody do azometiny, w wyniku czego powstaje produkt pośredni – karbinoloamina [2]. Jest to etap determinujący szybkości hydrolizy przy obojętnym i wysokim pH [26,27]. Karbinoloamina w tych warunkach obecna jest tylko w niewielkiej ilości, ponieważ szybko ulega rozkładowi z wytworzeniem aminy oraz aldehydu/ketonu [2]. W bardzo kwaśnym środowisku karbinoloamina rozkłada się powoli określając szybkość całego procesu [26,27]. Ponadto użycie mocno kwaśnego środowiska [26] czy wysokiej temperatury znacznie zwiększa ogólną szybkość hydrolizy [28]. Niektóre kationy metali przejściowych katalizują hydrolizę azometin, zazwyczaj w wyniku tworzenia związków kompleksowych. Wykorzystywane jest to często podczas optycznego wykrywania tych kationów Cu^{2+} [28,29], Hg^{2+} [30], Fe^{3+} [31], Al^{3+} w roztworach wodnych [32]. Co więcej wskutek hydrolizy azometin indukowanej wydzielaniem jonu wodorowego z HSO_4^- [33] czy addycją nukleofilową CN^- istnieje możliwość wykrywania tych anionów w środowisku wodnym [34]. Hydroliza azometin jest ponadto stosowana w celu fluorescencyjnego wykrycia wody w rozpuszczalnikach organicznych [35].



Rys. 10 Reakcja hydrolizy azometin [2].

Jak można się spodziewać, różne związki w podobnych warunkach charakteryzują się różnym stopniem hydrolizy. Zatem poszukiwano zależności między strukturą chemiczną a podatnością na hydrolizę [2]. W przypadku pochodnych N-benzylidenoaniliny, obecność grup elektronodonorowych w pierścieniu benzylidenowym ułatwia zajście hydrolizy z kolei grupy elektronoakceptorowe utrudniają hydrolizę [2,27]. Dla pochodnych 2-aminotiofenolu również zaobserwowano wpływ efektów elektronowych podstawników. Mianowicie im silniejszy efekt elektronodonorowy podstawnika tym szybsza hydroliza [26]. Na szybkość hydrolizy wpływają również czynniki steryczne, czyli umiejscowienie tych

grup w pierścieniu benzoesowym (pozycja orto spowalnia hydrolizę). Z reguły alifatyczne ketiminy ulegają hydrolizie szybciej niż aromatyczne ketiminy [2,27].

2.2. Związki z układem fenyloetynylofenylowym

W ostatnich czasach sporą uwagę przykuwają związki wysoce fluorescencyjne [36], głównie wykazujące solwatochromizm fluorofory dipolarne. Solwatochromizm to zmiana pozycji pasma emisyjnego w stosunku od polarności rozpuszczalnika. Związki wykazujące solwatochromizm są powszechnie stosowane szczególnie jako sondy do badań biologicznych. Służą również do mierzenia temperatury oraz lepkości i polarności rozpuszczalnika. Pożądanymi właściwościami są ponadto: fotostabilność, wysoki współczynnik absorpcji, absorpcja w świetle widzialnym oraz duża wydajność kwantowa fluorescencji [37].

Obecność układów π sprzężonych jest charakterystyczną cechą wielu barwników organicznych. Sprzężone układy π wywołują fotoindukowane przeniesienie ładunku wewnątrz cząsteczki [38]. Poszukuje się zależności między strukturą fluoroforów a fluorescencyjną wydajnością kwantową. Stwierdzono związek pomiędzy fluorescencyjną wydajnością kwantową a dystansem między sprzężonymi grupami przechodzącymi w stan wzbudzony. Zatem związki zawierające układ fenyloetynylofenylowy przejawiają wyższą emisję niż inne fluorogenne struktury, szczególnie w zakresie długich fal [36]. Co więcej właściwości emisyjne i luminescencyjne skorelowane są z ilością połączonych układów fenyloetynylofenylowych [39]. Ponadto przeprowadzono badania właściwości trzech podobnych związków różniących się jedynie obecnością wiązań wielokrotnych: wiązanie podwójne (winyłowe), potrójne (etynyłowe) oraz dwa potrójne (1,3-diynowe). Związek zawierający grupę etynyłową ($-C\equiv C-$) wykazywał znaczny solwatochromizm, jak również duże przesunięcie Stokesa i fotostabilność [37]. Związki zawierające wiązania potrójne są z powodzeniem stosowane jako barwniki DSCs w aktywacji ogniw słonecznych. Dzięki przesunięciu absorpcji w kierunku wyższych długości fal zebrana zostaje większa ilość światła słonecznego. Z powodu większej elektroujemności wiązania potrójnego

przesunięcie absorpcji jest mniejsze niż w przypadku wiązań podwójnych. Powodem tego jest większy odstęp między orbitalami HOMO-LUMO niż w wypadku barwników z wiązaniami podwójnymi. Jednakże barwniki z wiązaniem potrójnym zwiększają wydajności konwersji energii oraz transfer elektronów [38].

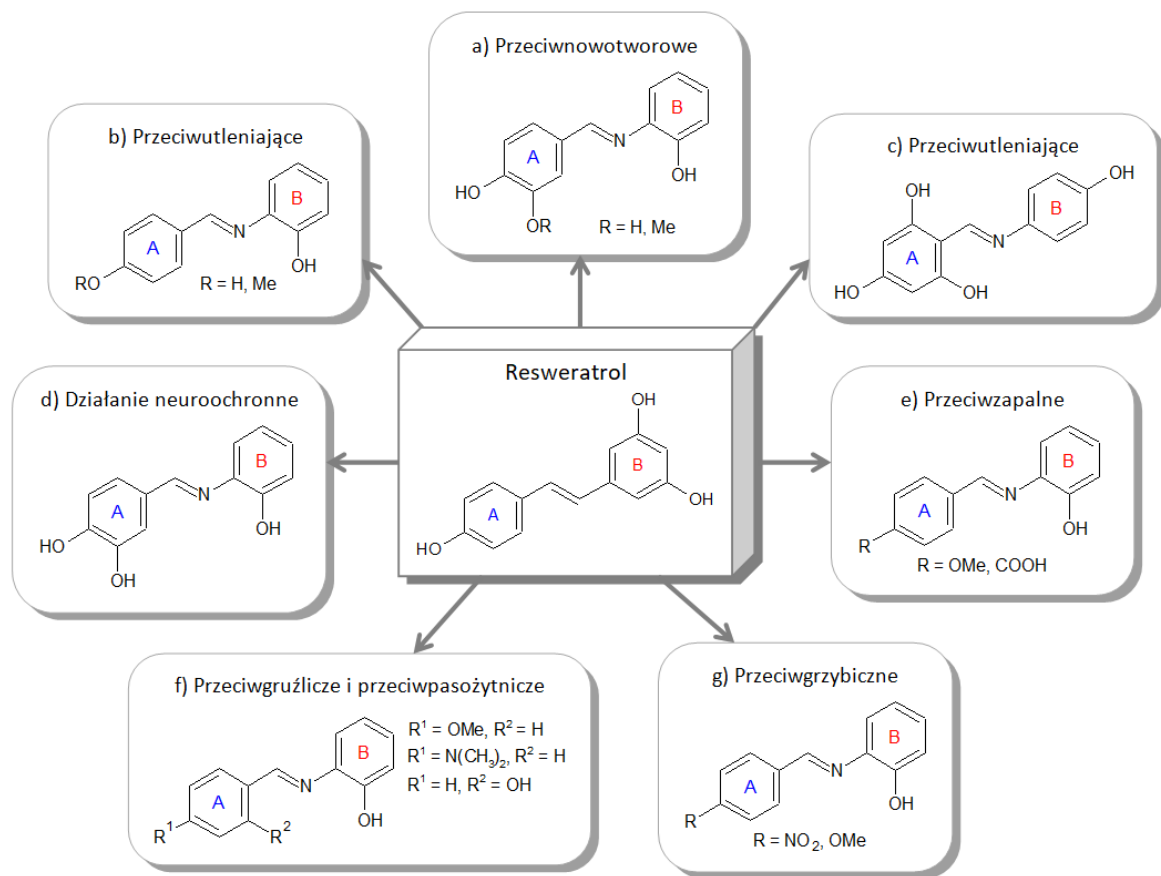
2.3. Iminowe pochodne resweratrolu (IRAs)

Resweratrol ((E)-3,5,4'-trihydroksystilben) (Rys. 11) jest naturalnym fenolem występującym w produktach spożywczych (jagody, orzeszki ziemne, winogrona a nawet wino), których spożywanie w dużych ilościach powoduje korzystne dla zdrowia skutki. Wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwwirusowe, przeciwutleniające, neuroochronne [40] oraz zakłóca szlaki sygnałowe powodujące proliferację lub śmierć komórki [41]. Ponadto jest skuteczny w leczeniu zaburzeń metabolicznych [40]. Aktywność biologiczna resweratrolu łączy się z jego właściwościami przeciwutleniającymi w wyniku, których jest on aktywnym czynnikiem eliminującym reaktywne formy tlenu (rodnik hydroksylowy, anion ponadtlenkowy i tlen singletowy) [42]. Wynikiem przeciwutleniających właściwości oraz zdolności hamowania agregacji amyloidu- β jest jego działanie neuroochronne w chorobie Alzheimera [40]. Resweratrol hamuje syntezę i uwalnianie kilku prozapalnych mediatorów, takich jak tlenek azotu i szeroki zakres cytokin [43]. Działanie przeciwnowotworowe polega na aktywacji czynnika transkrypcyjnego Nrf2, który odgrywa kluczową rolę w ekspresji genów zawierających sekwencję ARE (element odpowiedzi antyoksydacyjnej) [41]. Powstające w wyniku tej ekspresji enzymy i białka wykazują działanie cytoprotekcyjne. Wzrost aktywności czynnika Nrf2 jest istotnym elementem strategii chemoprewencyjnej nowotworów [44]. Ciekawe właściwości resweratrolu zainspirowały wielu naukowców do szerokiego zbadania jego pochodnych.

2.3.1. Budowa IRAs

Resweratrol szybko ulega przemianom metabolicznym, a ponadto wykazuje dość niską biodostępność z powodu słabej rozpuszczalności w wodzie [40]. Jego iminowe

pochodne miały na celu poprawić biodostępność przy jednoczesnej poprawie właściwości resweratrolu [41,43]. Iminowe pochodne resweratrolu powstały przez zastąpienie jednego atomu węgla w wiązaniu podwójnym C=C atomem azotu. Ponadto zmiany dotyczą również rodzaju i ilości podstawników w pierścieniach benzoesowych, które w przeważającej ilości są grupami hydroksylowymi.



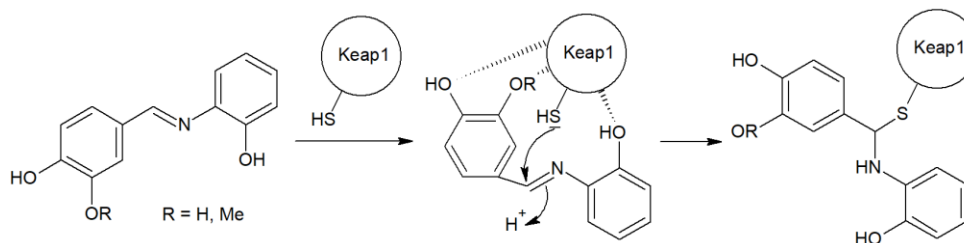
Rys. 11 Resweratrol i jego iminowe pochodne [40].

Wolna para elektronowa atomu azotu grupy iminowej może odgrywać rolę stabilizatora rodników fenoksylowych lub umożliwić wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe. Wiązanie iminowe jest spolaryzowane, przez co atom węgla podatny jest na atak nukleofilowy grupy tiolowej lub cysteiny [40]. Obecność grup hydroksylowych w pierścieniu B szczególnie w pozycji orto wydaje się być konieczna dla silnej aktywności przeciwutleniającej (Rys. 11a-b,d) [41,42]. Grupy hydroksylowe w pierścieniu A mogą wpływać na aktywność związków posiadających grupę OH w pierścieniu B. Grupy w pozycjach meta lub para w pierścieniu A wywołują efekt aktywujący w przeciwieństwie

do podstawników w pozycji orto [42]. Inne badania wykazały nieco odmienny pogląd na zależność aktywności przeciwutleniającej od struktury. Mianowicie nie udało się znaleźć jednoznacznej zależności aktywności od struktury, lecz zaobserwowano pozytywny efekt trzech grup hydroksylowych w pierścieniu A (*Rys. 11c*) [45]. Obecność podstawnika w pozycji para w pierścieniu A ułatwia przeciwzapalne właściwości iminowych pochodnych (*Rys. 11e*) [43]. Elektronodonorowe grupy obecne w pierścieniu A wywołują większy wzrost aktywności biologicznej związków niż grupy elektronoakceptorowe. Szczególnie jest to widoczne w przypadku właściwości przeciwgruźliczych i przeciwpasożytniczych [46].

2.3.2. Właściwości biologiczne IRAs

Jednym z czynników wpływających na aktywację Nrf2 jest białko Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) zwane też inhibitorem Nrf2 (INrf2) [44]. Elektrofile/reaktywne formy tlenu (ROS) mogą modyfikować Keap1 poprzez utlenianie kluczowej dla tego białka cysteiny, w rezultacie powodując dalsze uwalnianie Nrf2. Za prawidłową strategię chemoprewencyjną nowotworów uznaje się projektowanie małych cząsteczek modyfikujących Keap1. Wśród związków aktywujących w ten sposób Nrf2 możemy wymienić związki naturalne takie jak sulforafan, kurkumina i oczywiście resweratrol oraz związki syntetyczne (butylowany hydroksyanizol – BHA, oltipraz). Iminowe pochodne resweratrolu (*Rys. 11a*) wykazały silniejsze niż resweratrol działanie aktywujące Nrf2, jednak mechanizm tego działania pozostał ten sam, czyli modyfikacja białka Keap1 (*Rys. 12*) [41]. IRAs przejawiają również mocniejsze działanie przeciwutleniające przeciwko rodnikom 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH) oraz cząsteczkom tlenu singletowego (*Rys. 11b*) [42]. Inne badania potwierdziły przeciwutleniające właściwości przeciwko rodnikom DPPH i dodatkowo przeciw rodnikom galwinoksylowym (*Rys. 11c*) [45].



Rys. 12 Proponowany mechanizm interakcji IRAs z białkiem Keap1 [41].

Choroba Alzheimera jest neurodegeneracyjną chorobą charakteryzującą się utratą pamięci, spadkiem umiejętności językowych i innymi zaburzeniami poznawczymi. Etiologia tej choroby nie jest w pełni znana. Uważa się, że rozwój Alzheimera spowodowany jest akumulacją agregatów amyloidu- β ($A\beta$) w mózgu, powstających w wyniku nienormalnego odszczepienia prekursora amyloidu (APP). Zahamowanie agregacji $A\beta$ uważane jest za podstawową strategię terapeutyczną dla chorób neurodegeneratywnych. IRAs (*Rys. 11d*) wykazuje mocniejsze niż resweratrol działanie neuroochronne. Polega ono na właściwościach przeciwutleniających i hamujących agregację $A\beta$ poprzez tworzenie kompleksów z jonami miedzi, które wywołują agregację $A\beta$ [47].

IRAs (*Rys. 11e*) wykazują potencjał do modulowania stanów zapalnych. Hamują produkcję prozapalnych mediatorów, czyli tlenu azotu, cytokin i chemokin (IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α and CCL-2) oraz zmniejszają proliferację splenocytów w śledzionie [43]. Iminowe pochodne resweratrolu (*Rys. 11f*) posiadają właściwości przeciwegzamiczne i przeciwpasożytnicze w leczeniu choroby Leiszmanioza [46], a ponadto mają właściwości przeciwegzamiczne w Drożdżycy (candidiasis) (*Rys. 11g*) [48].

2.4. Znaczenie miedzi dla człowieka i środowiska

Miedź występuje w środowisku naturalnym. Jednak do celów przemysłowych często jest produkowana z minerałów siarczkowych lub tlenkowych. W wyniku przemysłowej działalności człowieka jak i z naturalnych źródeł miedź jest uwalniana nie tylko do gleby, ale również do wód oraz atmosfery. Miedź trafia do gleby przede wszystkim w postaci odpadów z kopalń miedzi, oczyszczalni ścieków oraz hut żelaza i stali. Z kolei do wód trafia za pośrednictwem ścieków przemysłowych i komunalnych, a także w wyniku korozji miedzi stosowanej w systemach chłodzących. Naturalnym źródłem miedzi atmosferycznej jest unoszący się pył pochodzący z wulkanów, rozkładającej się roślinność oraz pożarów lasów. Niebezpieczeństwo wdychania zanieczyszczonego powietrza może występować w miejscu pracy, szczególnie w górnictwie i rolnictwie [49].

Miedź jest zarówno niezbędnym mikrośladnikiem pokarmowym dla ludzi, zwierząt oraz roślin jak i toksycznym zanieczyszczeniem [49-51]. Co więcej podnosi się nawet spekulacje o jego rakotwórczości. Stwierdzono, że miedź oddziałując z lipidowymi nadtlenkami tworzy dialdehyd malonowy i 4-hydroksynonenal, które uważane są za substancje rakotwórcze, powodujące uszkodzenie DNA oraz tkanek [52]. Toksyczność miedzi wynika z produkcji reaktywnych form tlenu podczas reakcji redoks, tworzenia nadmiaru wolnej lub jonowej miedzi oraz utrudniania wiązania białka. Szacuje się, że 80–90% miedzi jest wydalone z kałem. Wypróżnianie jest najważniejszym mechanizmem regulacji miedzi, co jest niezbędne do utrzymania prawidłowej homeostazy miedzi w wątrobie. Miedź ma dwie główne funkcje: I) uczestniczy w reakcjach redukcji – utleniania z udziałem Cu (II) i Cu (I), II) jest składnikiem strukturalnych i funkcjonalnych białek ze względu na możliwości uczestniczenia w transporcie elektronów. Wpływa na pracę wielu systemów takich jak układ oddechowy, odpornościowy czy nerwowy [51]. Bierze udział w funkcjonowaniu procesów metabolicznych kilku enzymów (między innymi oksydaza askorbinianowa i aminowa, karboksypeptydaza A, metalotioneiny, tyrozynaza, urykaza) i innych potrzebnych białek. Wiele różnych badań dowiodło, że miedź jest niezbędna dla prawidłowego rozwoju dzieci, funkcjonowania mózgu, silnych kości, dojrzewania krwinek, mechanizmów obronnych, transportu żelaza, metabolizmu cholesterol i glukozy oraz kurczliwość mięśnia sercowego. Problem niedoboru miedzi może dotyczyć osób cierpiących na zespół Menkesa lub niemowląt mających przy urodzeniu niewielkie zapasy miedzi. Niedobór miedzi jest stosunkowo rzadki, może prowadzić do anemii, neutropenii, osteoporozy czy złamań [49,51].

W roku 1991 Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (EPA) określiła maksymalny poziom zanieczyszczenia wody pitnej miedzią na 1,3 mg/L. Następnie w 2017 roku EPA znormalizowała tę wartość na dawkę referencyjną wynoszącą 0,04 mg/kg masy ciała/dzień [51]. Natomiast według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) stężenie miedzi w wodzie pitnej może wynosić od 0,005 do 30 mg/L, za wartość orientacyjną przyjmuje się 2 mg/L. Dzienny limit spożycia miedzi dla dorosłego człowieka wynosi 10 mg/dzień. Zatem dla dorosłego człowieka z prawidłową gospodarką miedzi w organizmie za bezpieczne

przyjmuje się wypicie w ciągu dnia dwóch lub trzech litrów wody kranowej [50,51]. Na podstawie przypadków samobójczych i przypadkowego połknięcia miedzi wyznaczono dawkę śmiertelną wynoszącą od 4 do 400 mg miedzi na kilogram masy ciała [53]. Szacuje się, że woda pitna stanowi około 6–13% średniego dziennego spożycia miedzi [51]. Należy jednak wspomnieć, że woda z kranu nie jest jedynym źródłem spożywanej miedzi, są nimi również mięso, orzechy oraz w mniejszym stopniu zboża i owoce [54]. Stosowana dieta, biodostępność i zaburzenie gospodarki miedzi w organizmie może mieć różne skutki i potencjalne interakcje. Badania sugerują, że zaburzenia metaboliczne mogą powodować choroby neurodegeneracyjne takie jak choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona czy na zaburzenia ze spektrum autyzmu [51]. Ponadto wysokie stężenie miedzi w surowicy krwi zgłoszono jako czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [54]. Przekroczenie dziennego limitu spożycia grozi najczęściej podrażnieniem przewodu pokarmowego, nudnościami, wymiotami, biegunką a nawet ślinotokiem i bólem w nadbrzuszu [49-51]. Wymioty czy biegunka zwykle zapobiegają poważniejszym objawom takim jak śpiączka, wstrząs, skąpomocz i niedokrwistość hemolityczna [49]. Głównym, lecz bardzo rzadko występującym efektem przewlekłego podwyższonego spożycia miedzi jest uszkodzenie wątroby (marskość wątroby) [51]. Szczególnie narażone są niemowlęta karmione mlekiem przygotowanym z wody kranowej zawierającej już około 2 mg/L miedzi. Na nadmiar miedzi podatne są również osoby cierpiące na genetyczną chorobę Wilsona, nieprawidłowy metabolizm miedzi [49-51], przewlekłą chorobę nerek, ostrą niedokrwistość hemolityczną czy osoby z uszkodzoną wątrobą i niedoborem enzymu dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej. Z powodu trudności w ustaleniu dokładnych wymagań dotyczących spożycia miedzi, wyżej podane wartości miedzi należy traktować z dużą ostrożnością. Na trudność w pomiarze stanu miedzi i jej biodostępności wpływają czynniki takie jak cynk, węglowodany i witamina C [49]. Ponadto nadal istnieje niepewność co do długoterminowego wpływu miedzi na układ pokarmowy osób podatnych na jej nadmiar [50].

Duża ilość miedzi w wodzie jest groźna nie tylko dla naszego zdrowia, ale również dla zastosowań domowych. Zwiększa możliwość korozji ocynkowanego żelaza i łączników

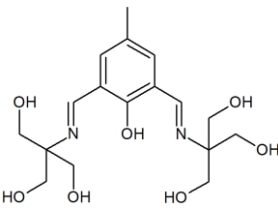
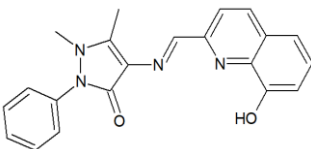
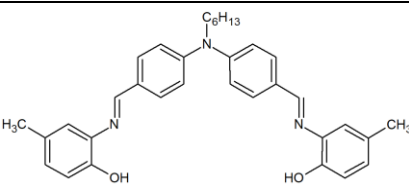
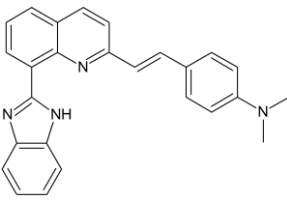
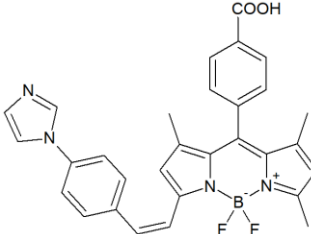
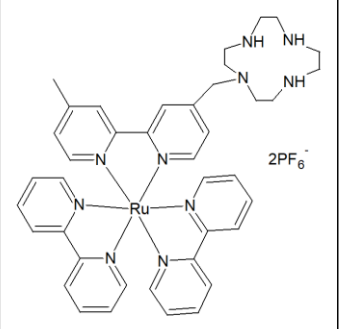
stalowych. Przy stężeniach powyżej 1 mg/L może spowodować zabarwienie prania czy urządzeń sanitarnych. Niepożądany gorzki smak oraz zmiana barwy wody mogą świadczyć o obecności miedzi w stężeniu ponad 2,5 mg/L [50].

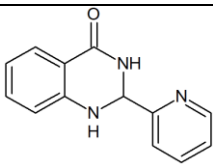
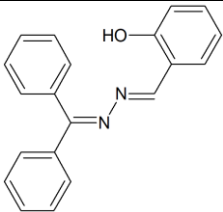
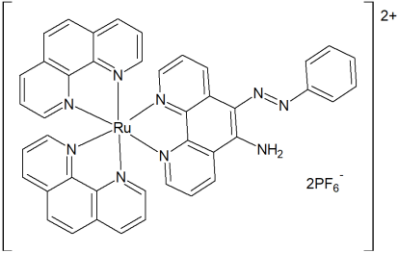
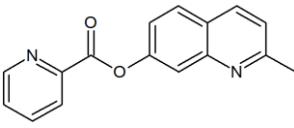
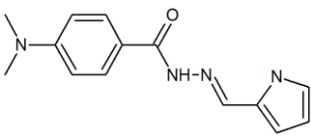
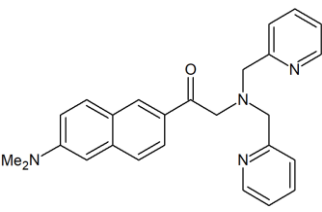
2.4.1. Przegląd metod wykrywania i oznaczania miedzi w wodzie

Korozja jest procesem niekorzystnym, powodującym degradację metalicznych części urządzeń takich jak rury, zbiorniki czy zawory, czego efektem może być wzrost stężenia miedzi bądź ołowiu w wodzie. Miedź przedostaje się do wody w procesie rozpuszczenia produktów korozji, czyli zasadowego węglanu miedzi(II). Zatem kontrolowanie skutków procesów korozyjnych jest ważnym aspektem bezpieczeństwa w zarządzaniu systemów wodnych [50]. Miedź w wodzie może być obecna w formie rozpuszczonej, zawiesiny lub osadu [49]. Do procesu korozji najczęściej dochodzi w wodzie o pH poniżej 6,5 i twardości mniejszej niż 60 mg węglanu wapnia na litr. Stopień korozji miedzi metalicznej zmniejsza się wraz ze wzrostem pH, natomiast wraz ze wzrostem stężenia węglanów ulega zwiększeniu. Stężenie miedzi w wodzie bieżącej jest z reguły niskie, niemniej jednak w wodach stojących ulega znacznemu zwiększeniu [50].

Wykrywanie jonów metali ciężkich w środowisku wodnym jest bardzo ważnym zagadnieniem, szeroko omawianym w dzisiejszych czasach głównie ze względów zdrowotnych. Większość sond organicznych w środowisku wodnym jest bezużyteczna, co związane jest z ich niską rozpuszczalnością, gaszeniem luminescencji, powolną reakcją oraz słabą stabilnością chemiczną. Do wykrywania bądź oznaczania miedzi w wodzie wykorzystywane są metody kolorymetryczne, atomowa spektrometria absorpcyjna (AAS), spektrometria mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS), spektrometria mas jonów wtórnych (SIMS) oraz metody elektrochemiczne i fotoelektrochemiczne. Niemniej jednak widoczny jest rozwój badań nad sondami do wykrywania jonów miedzi w środowisku wodnym, gdzie jako przykłady można podać nanocząstki (NPs) czy struktury metalo-organiczne (MOFs) [55]. W *Tabeli 2* przedstawiono sondy oraz metody wykrywania i/lub oznaczania miedzi w wodzie.

Tabela 2 Opis metod wykrywania i oznaczania miedzi w wodzie wraz z przykładami.

Sposób	Krótki opis metody	Zastosowana sonda	Obserwowane zmiany	Granica wykrywalności [M]	Ref.
S p e k t r o s k o p i a a b s o r p c y j n a	Obecność jonów miedzi w roztworze sondy skutkuje powstaniem nowego pasma absorpcyjnego a co za tym idzie zmianą barwy roztworu		Nowe pasmo – 380 nm Zmiana koloru z żółtego na bezbarwny	1×10^{-6}	[56]
			Nowe pasmo – 497 nm Zmiana koloru z jasnożółtego na różowy	$1,81 \times 10^{-6}$	[29]
			Nowe pasmo – 450 nm Zmiana koloru z żółtego na różowy	$1,89 \times 10^{-8}$	[53]
			Nowe pasmo – 550 nm Zmiana koloru z żółtego na fioletowy	$2,21 \times 10^{-7}$	[57]
S p e k t r o s k o p i a	Wiązanie fluoroforu z jonem miedzi powoduje wygaszanie fluorescencji („wyłączenie” sygnału)		Spadek intensywności pasma 573 nm	5×10^{-6}	[58]
			Spadek intensywności emisji pasma 604 nm	$5,4 \times 10^{-6}$	[55]

f l u o r e s c e n c y j n a				Spadek intensywności pasma 427 nm	$1,01 \times 10^{-8}$	[59]
				Spadek intensywności pasma 565 nm	$6,7 \times 10^{-8}$	[60]
				Pojawienie się intensywnego pasma emisji 599 nm	$4,42 \times 10^{-9}$	[55]
	Wiązanie fluoroforu z jonem miedzi powoduje generowanie fluorescencji („włączenie” sygnału)			Zwiększenie intensywności fluorescencji przy 502 nm	$1,5 \times 10^{-7}$	[61]
				Wzrost intensywności fluorescencji przy 427 nm	$3,2 \times 10^{-10}$	[62]
				Wygaszenie fluorescencji przy 540 nm i powstanie nowego pasma przy 435 nm	89×10^{-9}	[63]
M e t o d y	Ogniwo elektrolityczne składa się z elektrolitu (wodny roztwór) oraz trzech elektrod - roboczej,	M a k r o s t r u k t u r	Biocujnik oparty na cholinoesterazie - elektroda grafitowa zmodyfikowana przez użycie 1,3-dipodstawionych kaliksaren	Technika woltametryczna	$0,05 \times 10^{-3} - 4,0 \times 10^{-3}$	[52]
			Zastosowanie elektrody pasty węglowej wraz z dodatkiem 3-metylotiofenu lub kwasu 3-tiofenooctowego	Technika woltametryczna (SWASV)	$0,1 \times 10^{-6} - 10 \times 10^{-6}$	[64]

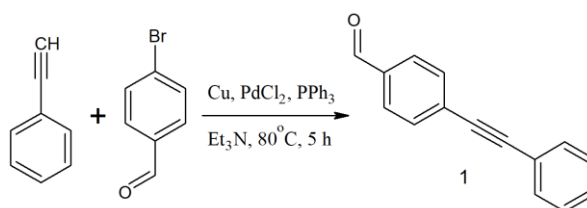
e l e k t r o c h e m i c z n e	zliczającej i odniesienia; elektroda robocza wzbogacona jest o różne materiały potrzebne w oznaczaniu	N	Elektrody jonoselektywne - złota elektroda została zmodyfikowana o cysteinę w postaci nanowłókien	Technika woltametryczna (CV i SWV)	15×10^{-6} – 50×10^{-6}	[52]
		a	Zastosowanie tranzystora polowego, elektroda zmodyfikowana dodatkiem nanodrutów krzemionkowych	Technika potencjometryczna (FET)	1×10^{-9}	[64]
		n	Elektroda modyfikowana przez dodatek nanocząstek złota osadzonych na nanowłóknach węglowych	Technika woltametryczna (SWASV)	1×10^{-7}	[64]
		o	Zastosowanie elektrody pasty węglowej zmodyfikowanej nanocząstkami CuNiO/Gt	Technika potencjometryczna (MCPE)	1×10^{-6}	[65]
		s	Redukcja jonów Cu^{2+} do Cu^+ chlorowodorkiem hydroksyloaminy, następnie kompleksowanie z 2,9-dimetylo-1,10-fenantroliną, na koniec utlenianie w obecności tri-n-propyloaminy	Elektrochemiluminescencja (ECL)	1×10^{-7}	[66]

Konwencjonalne metody analityczne takie jak AAS czy ICP-MS są rzadko stosowane w dzisiejszych czasach, głównie z powodu wysokich kosztów badań (m.in. związanych z specjalistycznym sprzętem) oraz ich czasochłonności [63]. Granice wykrywalności dla tych metod wynoszą odpowiednio $0,5 \mu\text{g/l}$ dla atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu (FAAS) oraz $0,02\text{--}0,1 \mu\text{g/l}$ w przypadku spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS) [50]. Spektroskopia fluorescencyjna jest wyróżniającą się metodą wykrywania jonów Cu^{2+} , głównie ze względu na prostotę, niski poziom szumów oraz wysoką selektywność i czułość [55]. Należy podkreślić, że sondy wzbudzające fluorescencję po chelatacji jonów miedzi są bardziej atrakcyjne niż sondy, które ją wygaszają [62]. Ponadto mechanizm oznaczeń fluorescencyjnych czy absorpcyjnych opiera się często na hydrolizie zastosowanej sondy [29,61]. Zatem nie bez znaczenia jest fakt, iż dużą grupę opisanych sond stanowią związki z wiązaniem iminowym [29,53,56].

Pierwszy etap polegał na otrzymaniu 4-(2-fenylotetynylo)benzaldehydu, który jest związkiem handlowo dostępnym, jednak w niniejszej pracy otrzymany został metodą literaturową sprzęgania Sonogashiry. W kolejnym etapie badań przeprowadzono kondensację 4-(2-fenylotetynylo)benzaldehydu z handlowo dostępnymi aminami pierwszorzędowymi. Do przeprowadzenia tej reakcji wyselekcjonowano odpowiednią metodę, badając w układzie modelowym wpływ warunków na jej przebieg. Ponadto podjęto próby kondensacji otrzymanego aldehydu z aminami heteroaromatycznymi (Rys. 13) wykorzystując do tego spreparowane katalizatory heterogeniczne. Katalizatory te otrzymano między innymi opracowaną w zespole metodą z przeniesienia transferowego nanometali na nośniki końcowe [67].

3.2. Synteza aldehydów aromatycznych z układem etynylowym lub 1,3-diynowym

W pierwszej kolejności otrzymano 4-(2-fenylotetynylo)benzaldehyd zgodnie z opisaną metodą sprzęgania Sonogashiry, poprzez reakcję 4-bromobenzaldehydu z fenylotetynem w środowisku osuszonej trietyloaminy i zastosowaniu układu katalitycznego złożonego z miedzi, chlorku palladu(II) oraz trifenylofosfiny (Rys. 14) [1,67]. Reakcję prowadzono przez pięć godzin w temperaturze 80°C, w wyniku czego otrzymywano produkt z wysoką wydajnością (97%).

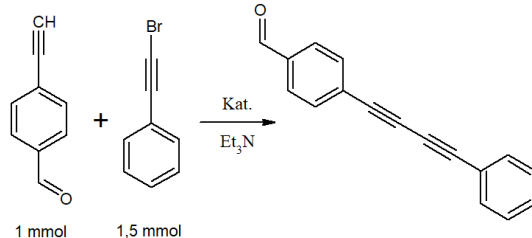


Rys. 14 Synteza 4-(2-fenylotetynylo)benzaldehydu.

W kolejnym kroku podjęto próby otrzymania 4-(4-fenylbuta-1,3-diyn-1-yl)benzaldehydu. Do tej pory opisano w literaturze dwie metody syntezy tego związku. Pierwsza polegała na sprzęganiu dwóch alkinów terminalnych w obecności przepuszczanego przez układ reakcyjny powietrza/tlenu oraz katalizatorów w postaci halogenków miedzi(I) (CuI, CuCl) czy chlorku niklu [68] lub przy zastosowaniu

promieniowania z niebieskich diod LED [69]. Druga metoda przebiega w dwóch etapach: (I) synteza 4-(jodoetynylo)benzaldehydu w wyniku jodowania etynylobenzaldehydu z wykorzystaniem N-jodosukcynoimidu, (II) reakcja sprzęgania fenyloacetylenu z 4-(jodoetynylo)benzaldehydem w obecności CuI, Pd(PPh₃)Cl₂ w atmosferze azotu [70]. W niniejszej pracy przebadano wpływ użytych katalizatorów: CuI, PdCl₂, 5% Pd/Cu oraz powietrza na możliwość przeprowadzenia reakcji Cadiota-Chodkiewicza pomiędzy p-acetylenobenzaldehydem a 1-bromo-2-fenyloacetylenem (Tabela 3). 1-bromo-2-fenyloacetylen otrzymano w wyniku bromowania fenyloacetylenu w środowisku acetonu, wykorzystując N-bromosukcynoimid (NBS) i katalizator w postaci azotanu srebra [71]. Natomiast p-acetylenobenzaldehyd otrzymano w dwuetapowej syntezie: (I) sprzęganie Sonogashiry pomiędzy p-bromobenzaldehydem a trimetylosilanoacetylenem, (II) metanoliza produktu w temperaturze pokojowej przy użyciu węgla potasu [72]. Wykorzystane katalizatory 5% Pd/Cu [67] oraz jodek miedzi(I) [73] również były otrzymane opisanymi w literaturze metodami. Wyniki z przeprowadzonych badań doboru odpowiednich warunków tej syntezy zestawiono w Tabeli 3. Próby wykonywano w układach z niewielkim nadmiarem 1-bromo-2-fenyloacetyleny.

Tabela 3 Synteza 4-(4-fenylobuta-1,3-diy-1-yl)benzaldehydu.



	Katalizator [mg]			Powietrze	Temperatura [°C]	Czas [h]	Konwersja ^a [%]
	CuI	PdCl ₂	5% Pd/Cu				
1.	-	-	5	✓	pokojowa	5	0
2.	-	-	5	✓	80	5	0
3.	5	-	-	✓	80	5	0
4.	5	-	-	-	pokojowa	4	0
5.	5	-	-	-	80	4	45
6.	5	-	-	-	80	3	39
7.	5	3	-	-	80	3	33
8.	-	-	36	-	80	3	26
9.	-	-	-	-	80	3	0
10.	5	3	-	-	80	13	27
11.	-	-	36	-	80	13	25

^a konwersja określona na podstawie analizy widma ¹H NMR

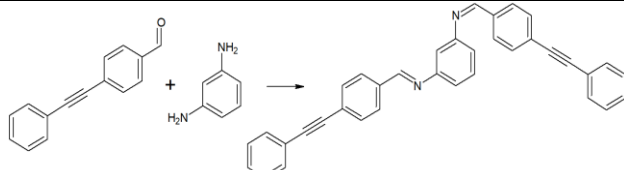
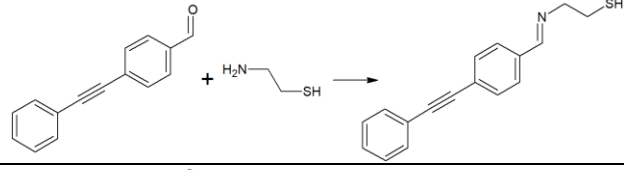
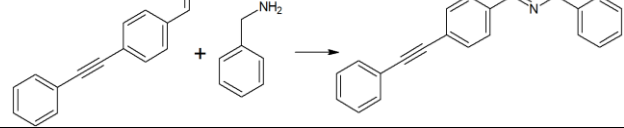
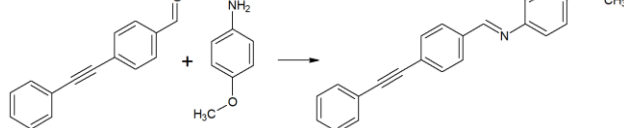
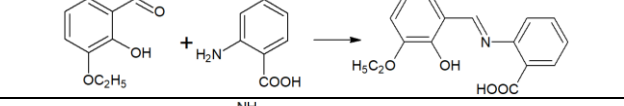
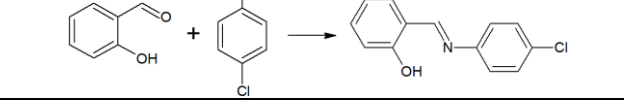
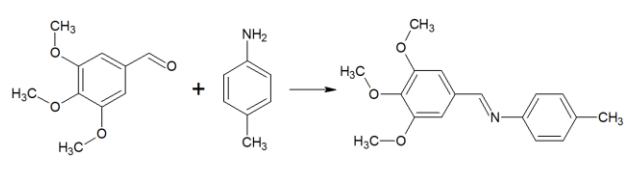
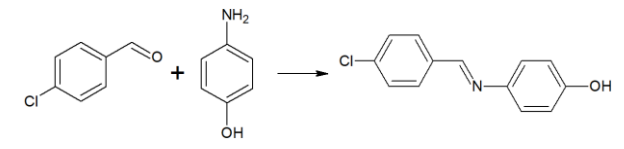
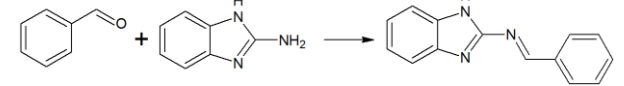
Próby syntezy 4-(4-fenylobuta-1,3-diyń-1-yl)benzaldehydu obejmowały sprawdzenie wpływu powietrza i temperatury na układ reakcyjny. Przepływ powietrza przez układ (*Tab. 3, poz. 1-3*) jak i prowadzenie reakcji w temperaturze pokojowej (*Tab. 3, poz. 1, 4*) nie sprzyjają reakcji. Rozwiązaniem okazało się zastosowanie wyższej temperatury połączone z użyciem katalizatora (*Tab. 3, poz. 5*). Wśród testowanych katalizatorów (*Tab. 3, poz. 6-9*) jodek miedzi(I) okazał się najbardziej efektywny (*Tab. 3, poz. 5, 6*). Ponadto zauważono, że wydłużenie czasu reakcji do trzynastu godzin (*Tab. 3, poz. 10,11*) nie poprawiło a wręcz pogorszało wyniki. Pomimo przeprowadzenia kilku prób nie udało się dobrać warunków reakcji pozwalających na przeprowadzanie syntezy w większej skali w celu otrzymania odpowiedniej ilości czystego 4-(4-fenylobuta-1,3-diyń-1-yl)benzaldehydu. Ograniczeniem w syntezie była również konieczność otrzymania substratów oraz katalizatorów, gdzie na przykład synteza p-acetylenobenzaldehydu obejmuje reakcje dwuetapową.

3.3. Synteza azometin

3.3.1. Badanie różnych metod otrzymywania azometin

W literaturze opisano wiele metod syntezy azometin, jednakże większość związana jest z kondensacją pierwszorzędowych amin z związkami karbonyłowymi (aldehydami lub ketonami). Analiza opisanych struktur z układem fenyloetynyofenyłowym na podstawie bazy Reaxys zaskakuje stosunkowo niewielką ilością opisanych analogów. Wydaje się to sygnalizować trudności syntetyczne związane z otrzymywaniem tej grupy związków. Z drugiej strony podawane wydajności syntez są z reguły wysokie. Poniżej w *Tabeli 4* przedstawiono krótki przegląd opisanych metod syntezy azometin.

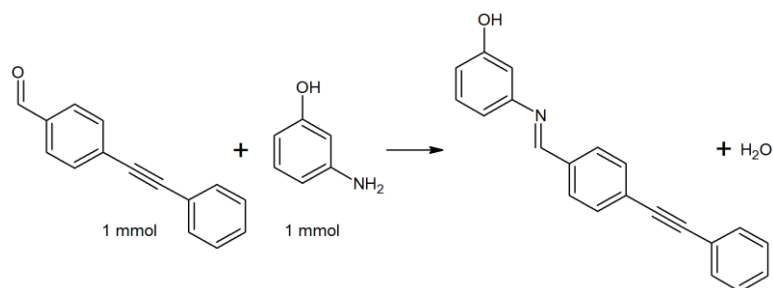
Tabela 4 Przegląd różnych metod otrzymywania reprezentatywnych azometin.

Lp.	Równanie reakcji	Warunki prowadzenia reakcji	Wydajność	Ref.
1.		Etanol, temperatura pokojowa, 12 godzin	91%	[74]
2.		Bezwodny MgSO ₄ , THF, temperatura pokojowa, 5 godzin	99%	[75]
3.		Stężony wodny roztwór NaCl	-	[76]
4.		Kwas kamforosulfonowy	-	[77]
5.		Etanol, temperatura wrzenia, 2 godziny	95%	[78]
6.		Woda, temperatura pokojowa, 1,5 godziny	75%	[79]
7.		Benzen, temperatura wrzenia, 7 godzin	72%	[80]
8.		Dichlorometan, bezwodny MgSO ₄ , temperatura pokojowa, 4 godziny	75%	
9.		Mielenie w moździercu, temperatura pokojowa, 24 godziny	100%	[81]
10.		Metanol, Ni(NO ₃) ₂ x 6H ₂ O, temperatura pokojowa, 25 minut	81%	[82]

11.		Metanol, stężony kwas siarkowy (VI), temperatura wrzenia, godzina	72%	[83]
12.		Etanol, lodowaty kwas octowy, temperatura wrzenia, 6-10 godzin	81%	[84]
13.		Etanol, krzemionka, ultradźwięki, 10 minut	99%	[85]
14.		Zmieszanie, następnie działanie promieniowaniem podczerwym, 30 minut	91%	[86]
15.		Acetonitryl, kwas octowy, temperatura pokojowa, 2 godziny	88%	[87]
16.		Sok z cytryny, temperatura pokojowa, 1,5 godziny	85%	[88]
17.		P ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃ , mielenie w moździerzu, temperatura pokojowa, 20 minut	90%	[89]
18.		Metanol, piperydyna, temperatura 65°C, 2 godziny	82%	[90]

W związku z tym postanowiono przetestować wpływ różnych warunków reakcji (wybrano dziewięć metod z *Tabeli 4*) na kondensację 3-aminofenolu i 4-(2-fenyletynylo)-benzaldehydu (*Tabela 5*). Sprawdzano między innymi wpływ katalizatorów takich jak azotan(V) niklu(II), stężony kwas siarkowy czy lodowaty kwas octowy oraz substancji odwadniających jak bezwodny siarczan(VI) magnezu i krzemionkę.

Tabela 5 Analiza metod syntezy azometin z układem fenyloetynylofenylowym.



Dodatkowe substancje		Środowisko		Temperatura [°C]	Czas [h]	Konwersja ^a [%]	Tabela 4 ^b
Rodzaj	Ilość	Rodzaj	Ilość [ml]				
1.	-	Etanol	2,5	80	3	3	1; 5
2.	-	Woda	5	pokojowa	3	0	6
3.	-	Benzen	3	80	3	23	7
4.	-	Ucieranie w moździerzu	-	pokojowa	1	0	9
5.	Ni(NO ₃) ₂ x 6H ₂ O	Metanol	5	pokojowa	2,5	8	10
6.	Stężony H ₂ SO ₄	Metanol	4	70	3	5	11
7.	CH ₃ COOH	Etanol	4	80	3	45	12; 15
8.	Bezwodny MgSO ₄	Dichlorometan	4	pokojowa	5	78	2; 8
9.	SiO ₂	Etanol Dichlorometan	2,5 2,5	zastosowanie ultradźwięków	1	90	13

^a konwersja określona na podstawie widma ¹H NMR; ^b podobne warunki porównaj z Tabelą 4 Lp.

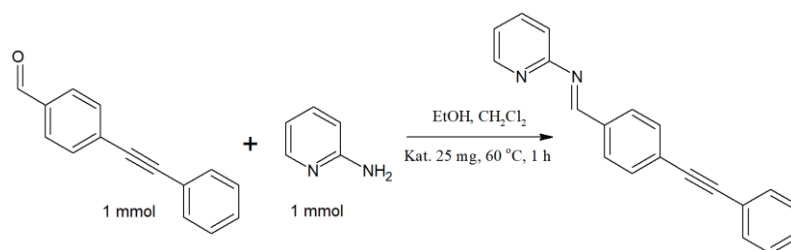
Analizując otrzymane wyniki można zauważyć wpływ stosowanych katalizatorów, substancji odwadniających oraz rozpuszczalnika na przebieg reakcji. Środowisko wodne (Tab. 5, poz. 2) jak można było się spodziewać nie sprzyja przebiegowi reakcji w przeciwieństwie do rozpuszczalników organicznych (Tab. 5, poz. 1, 3). Spośród katalizatorów najefektywniejszym okazał się lodowaty kwas octowy (Tab. 5, poz. 7), natomiast pozostałe katalizatory nie wykazały zadowalających wyników (Tab. 5, poz. 5, 6). Najlepszym rozwiązaniem okazało się zastosowanie substancji odwadniających (Tab. 5, poz. 8, 9) a w szczególności krzemionki, która wraz z aktywacją ultradźwiękami osiągnęła dość wysoką konwersję (90%). Na podstawie otrzymanych wyników, wybrano metodę polegającą na kondensacji amin pierwszorzędowych z aldehydami aromatycznymi przy wykorzystaniu krzemionki oraz ultradźwięków jako domyślną w syntezach szerszej grupy analogów.

3.3.2. Otrzymywanie azometin heterocyklicznych z użyciem katalizatorów

Oprócz konwencjonalnych metod syntezy azometin z użyciem katalizatorów kwasowych i środków osuszających istnieją liczne doniesienia na temat katalizatorów heterogenicznych. Wykorzystanie ich w syntezie azometin może być korzystne, ze względu na trudności kondensacji heterocyklicznych amin z aromatycznymi aldehydami. Wyszczególnić można katalizatory bazujące na nanostrukturach organicznych jak na przykład MCM-41-SO₃H [91] oraz nanocząsteczkach metali przykładowo Pd-Au@Mn(II)-MOF [92], Pd/ZrO₂ [93] i nanocząsteczki miedź [94]. Ponadto zgłoszono wiele katalizatorów stosujących nośnik krzemionkowy: P₂O₅/SiO₂ [95], NaHSO₄/SiO₂ [96].

W ramach niniejszej pracy przetestowano osiemnaście katalizatorów w reakcji modelowej 2-aminopirydyny z 4-(2-fenyletynylo)-benzaldehydem (*Tabela 6*). Trzy z nich stanowiły katalizatory handlowo dostępne (*Tab. 6, poz. 3-5*), natomiast pozostałe należą do grupy nano-katalizatorów (*Tab. 6, poz. 6-20*), których preparatyka opiera się na wytworzeniu nanostruktur metalu w matrycy krzemionkowej (Au/SiO₂, Ni/SiO₂, Pd/SiO₂, Cu/SiO₂, Pt/SiO₂) zgodnie z opisaną w literaturze metodą zol-żelową [97-99]. Następnie nanostruktury mogą być przenoszone na inny nośnik poprzez trawienie krzemionki. Uwalniane w tym procesie nanocząstki metalu osadzają się na powierzchni nośnika końcowego tworząc docelowy katalizator [67].

Tabela 6 Analiza aktywności katalizatorów w reakcji modelowej 2-aminopirydyny z 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydem.



	Katalizator	Konwersja ^a [%]	Uwagi
1.	-	26	ślepa próba
2.	SiO ₂	15	

3.	Ni	14	
4.	Cu	21	
5.	PdCl ₂	16	
6.	1% Cu/SiO ₂	14	
7.	2% Pt/SiO ₂	19	
8.	Au/Mg(OH) ₂	20	
9.	1% Au/Co ₂ O ₃	17	
10.	1% Au/CuO	19	
11.	1% Pd/CuO	17	
12.	1% Pd/Ag	13	
13.	10% Pd/Cu	10	
14.	1% Au/SiO ₂	30	
15.	1% Ni/SiO ₂	25	
16.	1% Pd/SiO ₂	26	
17.	Pd/C	23	
18.	1% Pd/Co ₂ O ₃	23	
19.	5% Pd/Cu	46	
20.	1% Pd/Cu	35	

^a konwersja określona na podstawie widma ¹H NMR

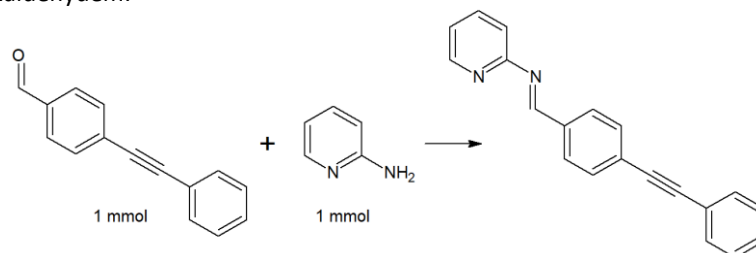
konwersja
mniejsza niż ślepej
próby

konwersja
podobna do ślepej
próby

konwersja wyższa
niż ślepej próby

Spośród osiemnastu przebadanych katalizatorów jedynie dwa okazały się aktywne (Tab. 6, poz. 19, 20), pozostałe wykazały aktywność niższą (Tab. 6, poz. 3-13) lub podobną do ślepej próby (Tab. 6, poz. 14-18). Najlepszym ze sprawdzonych katalizatorów okazał się być 5% nanomataliczny pallad na miedzi elektrolitycznej. Niemniej jednak niska konwersja skłoniła mnie do kolejnych prób. W dalszej części badań skupiono się na badaniu wpływu innych paramentów (rozpuszczalnik, temperatura, czas) na przebieg reakcji z użyciem 5% Pd/Cu (Tabela 7).

Tabela 7 Analiza aktywności 5% Pd/Cu w reakcji modelowej 2-aminopirydyny z 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydem.



	Katalizator		Środowisko	Temperatura [°C]	Czas [h]	Konwersja ^a [%]
	Rodzaj	Ilość [mg]				
1.	-	-	etanol	60	1	31
2.	-	-	octan etylu	60	1	23
3.	-	-	dichlorometan	60	1	17
4.	-	-	metanol	60	1	21
5.	-	-	etanol, dichlorometan	60	1	26
6.	-	-	etanol, octan etylu	60	1	26

7.	5% Pd/Cu	25	etanol	50	1	23
8.	5% Pd/Cu	25	etanol	60	1	26
9.	5% Pd/Cu	25	etanol	70	1	39
10.	5% Pd/Cu	25	etanol	80	1	38
11.	5% Pd/Cu	25	etanol, dichlorometan	60	1	48
12.	5% Pd/Cu	25	etanol, dichlorometan	60	3	45
13.	5% Pd/Cu	25	etanol, dichlorometan	60	8	37
14.	5% Pd/Cu	15	etanol, dichlorometan	60	4	14
15.	5% Pd/Cu	15	etanol, dichlorometan	60	16	43
16.	5% Pd/Cu	15	etanol, dichlorometan	60	24	39
17.	5% Pd/Cu	15	etanol, dichlorometan	60	40	44
18.	5% Pd/Cu	15	etanol, dichlorometan	ultradźwięki	1	31
19.	SiO ₂	250	etanol, dichlorometan	ultradźwięki	1	42

^a konwersja określona na podstawie widma ¹H NMR

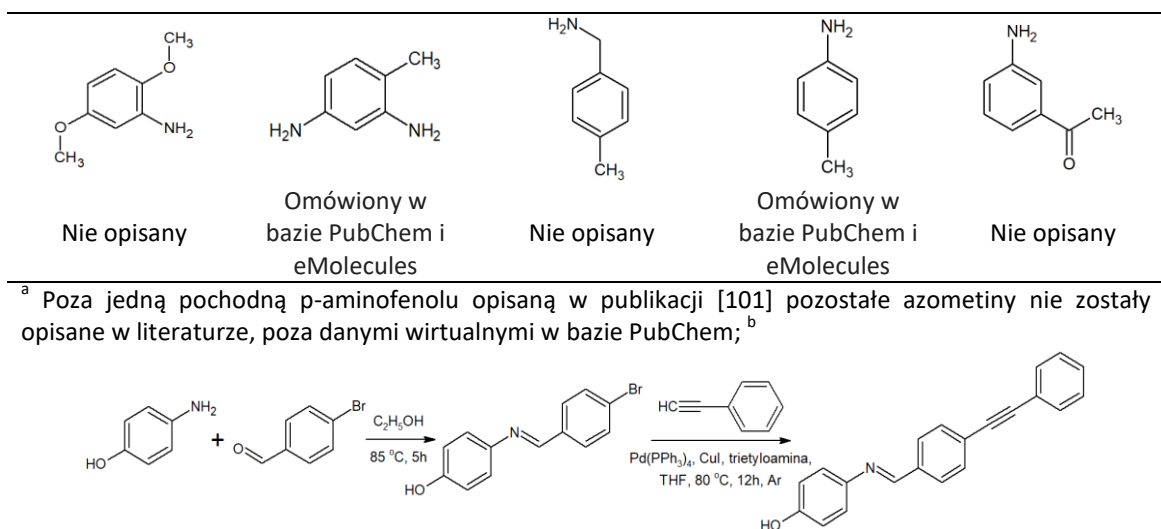
Środowisko jak i temperatura reakcji mają znaczący wpływ na obserwowane wartości konwersji. Zadowalające wyniki otrzymano przy użyciu etanolu (*Tab. 7, poz. 1*) oraz mieszanin etanolu z dichlorometanem lub octanem etylu (v/v 1:1) (*Tab. 7, poz. 5,6*). Im wyższa temperatura tj. bliższa temperaturze wrzenia użytego rozpuszczalnika tym efektywniej przebiega reakcja (*Tab. 7, poz. 7-10*). Użycie 15 mg 5% Pd/Cu zamiast 25 mg powoduje znaczne spowolnienie reakcji (*Tab. 7, poz. 14*). Jednak po pewnym czasie otrzymane konwersje (*Tab. 7, poz. 15-17*) oscylują w wartościach podobnych jak w przypadku użycia 25 mg 5% Pd/Cu (*Tab. 7, poz. 11-13*) a także 0,5 g krzemionki (*Tab. 7, poz. 19*). Wynika stąd, że użycie 5% Pd/Cu jest w równym stopniu efektywne jak użycie krzemionki. Uzyskane wyniki nasuwają hipotezę, że w okolicach 45% konwersji reakcja osiąga pewien stan równowagi. Usilne próby wydzielenia czystej azometyny nie powiodły się. Użycie chromatografii kolumnowej, wymrażania bądź krystalizacji nie było skuteczne najprawdopodobniej z powodu rozkładu azometyny [18].

3.3.3. Otrzymywanie azometin z układem fenyloetynylofenylowym

Azometyny otrzymywano poprzez kondensację 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydu z handlowo dostępnymi amiami pierwszorzędowymi, stosując opracowaną w poprzednim podrozdziale procedurę obejmującą użycie krzemionki i ultradźwięków. W *Tabeli 8* zaprezentowano wzory strukturalne otrzymanych związków (*Tab. 8A*) oraz wykorzystanych amin, z których nie udało się otrzymać pożądanego produktu (*Tab. 8B*).

Tabela 8 Próby syntezy azometin.

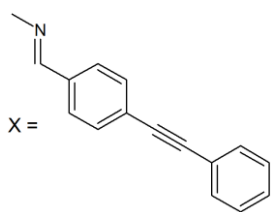
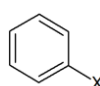
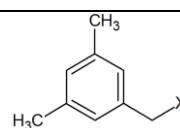
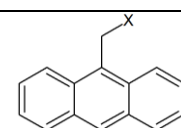
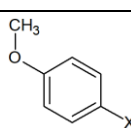
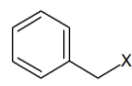
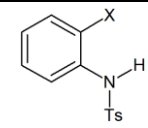
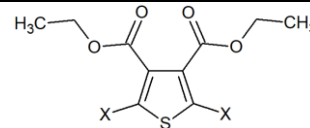
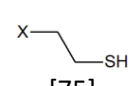
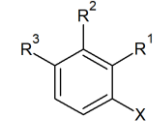
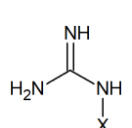
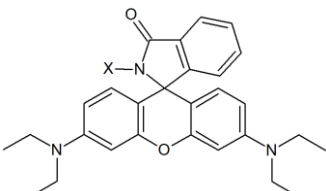
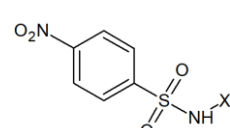
<p style="text-align: center;">A) Otrzymane azometyny</p>				
<div></div> <p style="text-align: center;">2a (MK-3)</p> <p>Związek wykorzystany w syntezie, brak dokładnych danych dotyczących jego otrzymania [100]</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">2b (MK-5)</p> <p>Nowy związek</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">2c (MK-6)</p> <p>Nowy związek</p>		
<div></div> <p style="text-align: center;">2d (MK-8)</p> <p>Nowy związek</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">2e (MK-4)</p> <p>Nowy związek</p>			
<p style="text-align: center;">B) Aminy pierwszorzędowe, z których nie udało się otrzymać azometin^a</p>				
<div></div> <p style="text-align: center;">Omówiony w bazie PubChem</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Omówiony w bazie PubChem</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Omówiony w bazie PubChem i eMolecules</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Nie opisany</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Nie opisany</p>
<div></div> <p style="text-align: center;">Nie opisany</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Otrzymany^b [101]</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Nie opisany</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Omówiony w bazie PubChem i eMolecules</p>	<div></div> <p style="text-align: center;">Omówiony w bazie PubChem i eMolecules</p>



Większość prób otrzymania azometin (szczególnie z aminami heteroaromatycznymi) nie przyniosły pozytywnego efektu pomimo wykorzystania opisanych w literaturze metod syntezy czy katalizatorów heterogenicznych. Jednym z głównych problemów były trudności związane z wydzieleniem czystego produktu, nawet w momencie, gdy analiza mieszaniny poreakcyjnej (TCL i ^1H NMR) wskazywała na tworzenie się azometin. Wykorzystanie chromatografii kolumnowej do oczyszczania azometin było nieefektywne (co związane jest z rozkładem azometin), wobec tego najczęściej stosowaną w literaturze metodą oczyszczania jest krystalizacja [18]. Po przeprowadzeniu syntez oraz oczyszczaniu metodą krystalizacji udało się wydzielić w czystej postaci pięć azometin zawierających układ fenyloetynylofenylowy (*Tabela 8A*). Obserwowane problemy syntetyczne mogą być spowodowane słabymi właściwościami elektrofilowymi 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydu, na co wpływ może mieć występowanie sprzężonego układu z wiązaniem potrójnym. Właściwości elektrofilowe aldehydów są ściśle związane z ich właściwościami redukującymi [102]. W literaturze opisane są badania redukcji 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydu, gdzie zastosowanie prostych środków redukujących nie pozwalało na otrzymanie produktu, co wskazuje na słabą elektrofilowość tego aldehydu [103]. Dopiero zastosowanie specjalnych kompleksów metali jako katalizatorów dało pozytywny efekt [104-106]. Ponadto dokonano przeglądu literaturowego na podstawie, którego odnaleziono jedenaście opisanych azometin oraz trzy hydrazony z badanym

motywem (Tabela 9), pomimo handlowej dostępności 4-(2-fenyletynilo)-benzaldehydu. Rozwiązaniem problemu związanego z syntezą tych związków może być inna ścieżka syntetyczna, obejmująca kondensację amin pierwszorzędowych z 4-bromobenzaldehydem a następnie sprzęgnięcie produktu z fenylacetylenem [101]. Niemniej jednak sprzęganie Sonogashiry jest w tym przypadku bardziej kłopotliwe. W związku z tym poszerzenie grupy tych związków w oparciu o tego typu alternatywną ścieżkę nie jest prostym zadaniem syntetycznym.

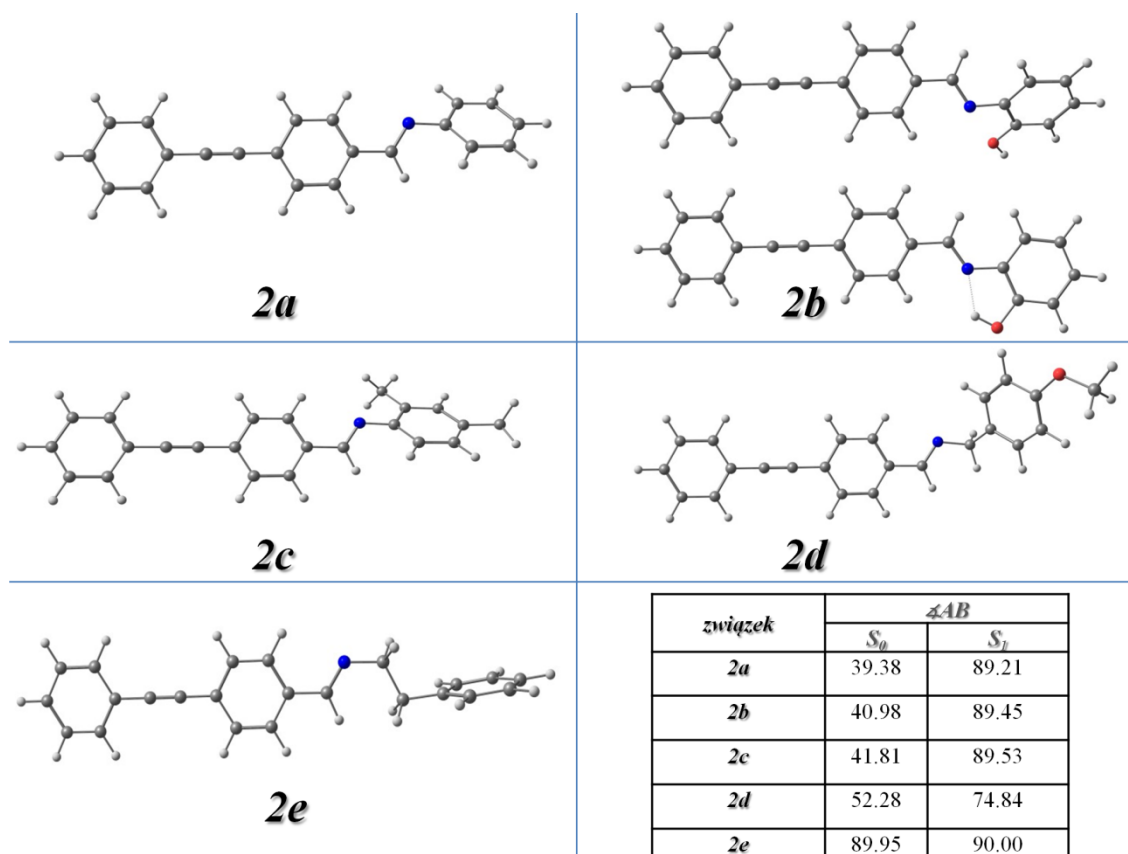
Tabela 9 Opisane w literaturze związki otrzymane metodą kondensacji amin z 4-(2-fenyletynilo)-benzaldehydem, należące do grupy azometin i hydrazonów.

			
 [100]	 [107]	 [107]	 [77]
 [76]	 [108]	 [109]	 [75]
 A: R ¹ =X, R ² =H, R ³ =H B: R ¹ =H, R ² =X, R ³ =H C: R ¹ =H, R ² =H, R ³ =X [74]	 [70]	 [110]	 [111]

Badania ¹H NMR, ¹³C NMR i analiza elementarna potwierdziły budowę chemiczną otrzymanych związków (Podrozdział 4.4.2.). Widma NMR zsyntetyzowanych azometin przedstawiono w materiałach uzupełniających. Sygnały protonów w jednostkach iminowych obserwowano w zakresie 8,30–8,76 ppm. Protony w pierścieniu aromatycznym dają sygnały w zakresie 6,85–8,09 ppm. Dwa sygnały dla każdego związku w zakresie 89–92 ppm w widmach ¹³C NMR potwierdziły obecność atomów węgla w wiązaniu -C≡C-.

3.4. Obliczenia DFT¹

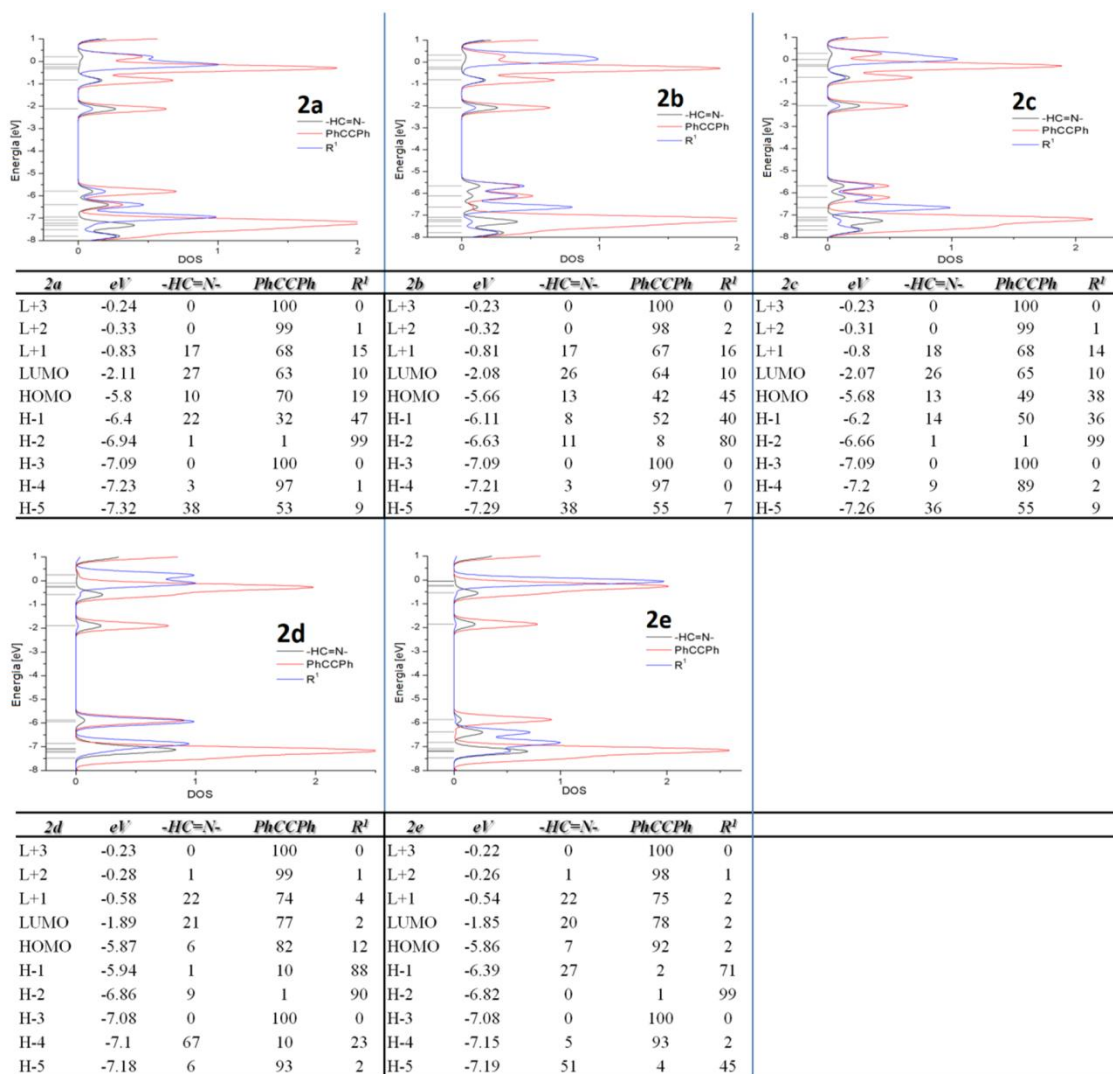
Obliczenia teoretyczne wykonano przy użyciu DFT z hybrydową funkcją wymiany i korekcji dalekiego zasięgu CAM-B3LYP [112] i zestawem bazy 6-31G++. Obliczenia przeprowadzono za pomocą programu Gaussian09 [113]. Geometria singletowego stanu podstawowego azometin została zoptymalizowana w fazie gazowej. Obliczenia częstotliwości dla każdego ze związków pokazują tylko wartości dodatnie, które potwierdzają, że zoptymalizowana struktura molekularna odpowiada minimum energetycznemu. Fragment 4-(fenyloetynylo)fenylowy w każdej cząsteczce azometiny jest płaski (Rys. 15), podczas gdy kąt między pierścieniem 4-(fenyloetynylo)fenylowym i fenylowym płaszczyzn R1 zmienia się od 40° do 90° w seriach 2a < 2b < 2c < 2d < 2e (Rys. 15).



Rys. 15 Obliczone struktury molekularne oraz kąt pomiędzy płaszczyznami 4- (fenyloetynylo)fenylu (A) i terminalnym fenylem (B) dla związków 2a-2e.

¹ We współpracy z Prof. dr hab. Janem Grzegorzem Małeckim

Energie i rozkład elektronowy molekularnych orbitali granicznych obliczono w acetonitrylu, a efekt rozpuszczalnika wprowadzono za pomocą polaryzowalnego modelu kontinuum (PCM) [114]. Poziomy energii wybranych pionowych orbitali molekularnych azometin przedstawiono na *Rysunku 17*. W celu określenia składu orbitali molekularnych związków na granicy obliczono gęstość stanów (DOS) pod względem analizy populacji Müllikena za pomocą programu GaussSum [115]. Diagramy DOS oraz skład wybranych orbitali przedstawiono na *Rysunku 16*.



Rys. 16 Diagramy DOS dla związków 2a-2e.

Struktury elektronowe związków są podobne, a LUMO zlokalizowane są na części cząsteczki PhC≡CPh–HC=N–. W HOMO orbitale R^1 są zaangażowane, a ich udział jest

szczególnie widoczny w przypadku 2b i 2c (*Tabela 10*). Zasadniczo cząsteczki z małymi przerwami energetycznymi HOMO-LUMO są bardziej polaryzowalne niż cząsteczki z dużymi przerwami energetycznymi [116]. Zatem jak można zobaczyć na *Rysunku 17* cząsteczka 2b jest najbardziej podatna na polaryzację.

W przypadku związku 2b możliwe jest utworzenie wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego między grupą hydroksylową a azotem azometinowym. Różnica energii między cząsteczką 2b z i bez wiązania wodorowego OH \cdots N (odległość H \cdots N 1,91 Å) wynosi tylko około 7 kcal/mol, więc tworzenie wiązania wodorowego w roztworze jest wysoce prawdopodobne. Ponadto obliczony moment dipolowy dla cząsteczki z wiązaniem wodorowym jest znacznie wyższy (*Tabela 10*), co wskazuje na możliwość hydrolizy takiej cząsteczki w obecności wody (*vide infra*).

Tabela 10 Momenty dipolowe i C = N wskaźniki obligacji Wiberga obliczone w roztworze ACN.

Związek	Moment dipolowy [D]		Wskaźniki Wiberga	
	S_0	S_1	S_0	S_1
2a	2.30	10.01	1.75	1.53
2b	1.03 (3.46)*	8.47	1.75	1.54
2c	1.73	9.69	1.75	1.54
2d	2.74	3.29	1.83	1.80
2e	1.71	1.96	1.83	1.79

* moment dipolowy w przypadku wiązania H między OH \cdots N

Do obliczeń pierwszych stanów wzbudzonych wykorzystano zależną od czasu teorię funkcjonalną gęstości (TD-DFT) [117]. W stanie S1 kąty między płaszczyznami R1 a PhC \equiv CPh- są zbliżone do 90° z wyjątkiem 2d, w którym kąt jest zbliżony do 75° (*Rys. 15*). Momenty dipolowe w S1 są znacznie wyższe (*Tabela 10*) niż w stanach podstawowych, jednak w przypadku 2e różnica jest niewielka. Geometria stanu podstawowego i pierwszego stanu wzbudzenia 2e są bardzo podobne. Chociaż w stanie wzbudzonym wiązanie azometinowe C=N jest przedłużane, co można zobaczyć na podstawie wskaźników Wiberga (obliczonych przy użyciu programu NBO 3.1 zaimplementowanego

w Gaussian09) zebranych w *Tabeli 10* (zmiany w przypadkach 2d i 2e są małe). Niemniej jednak ładunek na części azometinowej w 2e jest najwyższy i w przeciwieństwie do innych związków wzrasta w stanie wzbudzonym (*Tabela 11*). Zatem hydrolizę w przypadku 2b ułatwia obecność wiązania wodorowego OH \cdots N, podczas gdy nukleofilowy charakter grupy azometinowej odgrywa rolę w 2e.

Tabela 11 Ładunki naturalne –HC=N– w acetonitrylu.

Związek	<i>N</i>		<i>C</i>		<i>H</i>		–HC=N–	
	<i>S</i> ₀	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₀	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₀	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₀	<i>S</i> ₁
2a	-0.461	-0.554	0.109	0.241	0.201	0.222	-0.151	-0.091
2b	-0.454	-0.547	0.106	0.238	0.200	0.222	-0.146	-0.087
2c	-0.460	-0.552	0.105	0.239	0.199	0.222	-0.156	-0.091
2d	-0.453	-0.450	0.092	0.074	0.192	0.194	-0.169	-0.065
2e	-0.449	-0.450	0.079	0.067	0.195	0.197	-0.175	-0.186

3.5. Elektrochemiczne właściwości związków²

Procesy redukcji i utleniania związków charakteryzują się nieodwracalnością. Efekt ten może wynikać z obecności grupy acetylenowej [118]. Potencjały redukcji badanych azometin znajdują się w zakresie od -1,97 V do -1,91 V (*Tabela 12*). Wszystkie związki charakteryzują się bardzo niskimi prądami utleniającymi, co komplikuje określenie potencjału utleniającego. Porównując różnice w poziomach energii obliczone na podstawie woltamperometrii cyklicznej (E_g^{cv}) i widm absorpcyjnych UV-VIS (E_g^{opt}) widać dużą różnicę w luce energetycznej.

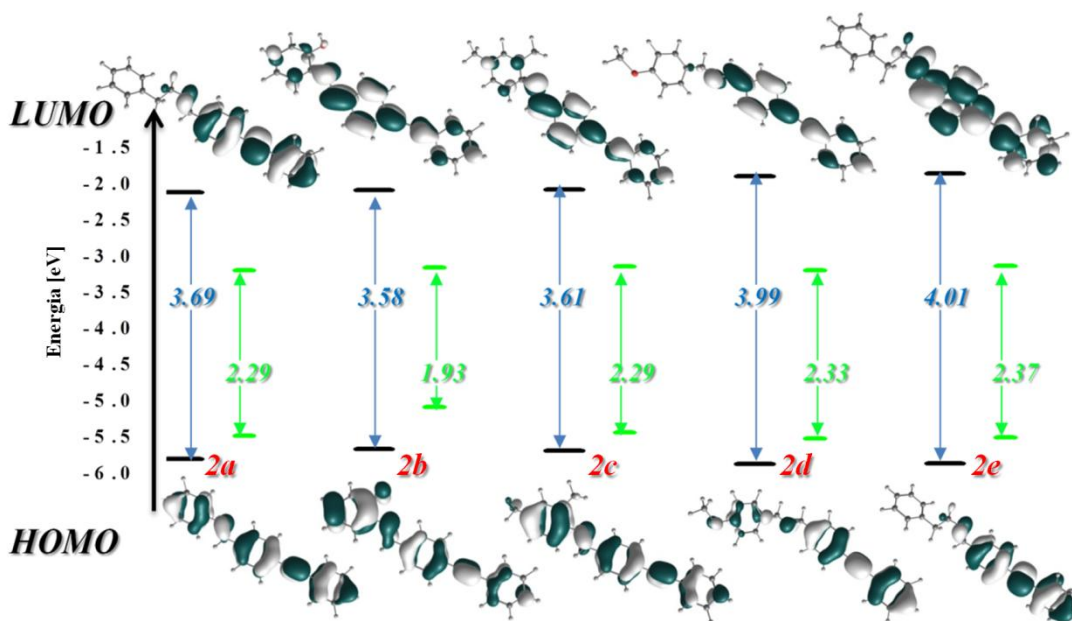
² We współpracy z pracownikami Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN

Tabela 12 Dane elektrochemiczne związków oznaczone metodą woltamperometrii cyklicznej (CV).

Związek	E_{ox} [V]	E_{red} [V]	E_g^{opt} [V]	IP [eV]	EA [eV]	E_g^{CV} [V]
2a	0.38	-1.91	2.89	-5.48	-3.19	2.29
2b	-0.02	-1.95	3.16	-5.08	-3.15	1.93
2c	0.33	-1.96	2.94	-5.43	-3.14	2.29
2d	0.42	-1.91	3.09	-5.52	-3.19	2.33
2e	0.40	-1.97	3.10	-5.50	-3.13	2.37

E_{ox} – początek procesu utleniania vs Fc/Fc⁺; E_{red} – początek procesu redukcji vs Fc/Fc⁺;
 E_g^{el} – luka energetyczna obliczona z krzywych CV, $E_g^{el} = E_{ox} - E_{red}$;
 E_g^{opt} – luka energetyczna obliczona na podstawie widma absorbancji, $E_g^{opt} = 1240/\lambda$
gdzie λ jest długością fali przejścia $\pi-\pi^*$; $HOMO^{el} = -(E_{ox} + 5.1)$; $LUMO^{el} = (E_{red} + 5.1)$

Na *Rysunku 17* przedstawiono wartości poziomów oraz kontury orbitali molekularnych HOMO i LUMO a ponadto luki energetyczne określone eksperymentalnie (E_g^{CV}) oraz obliczone przez DFT (*Rys. 16*). Wartości przerwy energetycznej (E_g^{CV}) wyznaczone eksperymentalnie różnią się od wyznaczonych przez obliczenia DFT. Różnice w poziomie HOMO są dla większości związków niewielkie (w granicach 0,25-0,36 eV) jednak w przypadku związku 2b różnica jest większa (0,58 eV). Znaczące różnice obserwujemy w procesach redukcji, które wynoszą od 1,07 eV do 1,3 eV (różnica poziomów LUMO). Wirtualne orbitale są ogólnie trudniejsze do opisu teoretycznego w przeciwieństwie do orbitali zajętych, a zatem błędy w energii LUMO są większe.



Rys. 17 Poziomy energii HOMO – LUMO (niebieski: teoretyczny, zielony: eksperymentalny) i kompozycje orbitalne.

3.6. Właściwości termiczne azometin

Otrzymane związki poddano analizie termogravimetrycznej (TGA) oraz różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) w celu określenia temperatury topnienia (T_m) i stabilności termicznej tych związków. Wyniki badań DSC i TGA zestawiono w Tabeli 13.

Tabela 13 Właściwości cieplne badanych azometin.

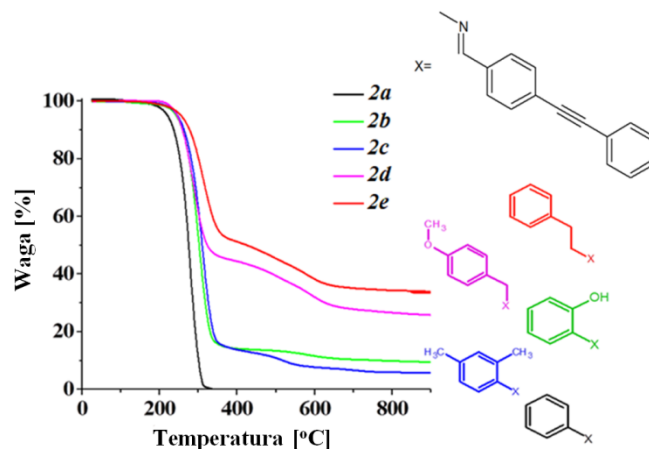
Oznaczenie związku	DSC				TGA	
	I skan	II skan		$T_5^c (^{\circ}\text{C})$	$T_{10}^c (^{\circ}\text{C})$	$T_{\text{max}}^d (^{\circ}\text{C})$
	$T_m^a (^{\circ}\text{C})$	$T_c^b (^{\circ}\text{C})$	$T_m^a (^{\circ}\text{C})$			
2a (MK-3)	148	-	148	223	238	280
2b (MK-5)	153	-	152	244	260	300
2c (MK-6)	100	-	93	248	265	308, 515
2d (MK-8)	122	71	121	249	260	286, 592
2e (MK-4)	90	53	90	256	275	313, 582

^a Temperatura topnienia; ^b Temperatura zimnej krystalizacji; ^c T_5 i T_{10} to odpowiednio temperatury przy 5% i 10% utracie masy; ^d Maksymalna temperatura rozkładu

Wszystkie otrzymane azometiny były związkami krystalicznymi, co zostało potwierdzone przez DSC. Podczas pierwszego ogrzewania zaobserwowano jeden endotermiczny pik spowodowany osiągnięciem temperatury topnienia w zakresie od 90°C do 153°C. Po szybkim ochłodzeniu drugie ogrzewanie wykazało dodatkowo obecność egzotermicznej krystalizacji dla związków 2d i 2e. Stwierdzono wpływ struktury na temperaturę topnienia. Mianowicie wprowadzenie grupy hydroksylowej (2b) podnosi T_m w przeciwieństwie do dwóch podstawników metylowych (2c), które znacznie zmniejszają T_m . Najwyższą temperaturę topnienia wykazuje cząsteczka 2b a najniższą 2e.

Korzystając z analizy termogravimetrycznej określono stabilność termiczną otrzymanych azometin. Początek rozkładu obserwowano w granicach 223-256°C, co oznacza wysoką stabilność termiczną. Zależność stabilności termicznej od składu chemicznego początkowo nie była widoczna biorąc pod uwagę temperaturę 5% ubytku masy (T_5). Jednak dalszy wzrost temperatury powoduje różny spadek masy zależny od struktury azometiny (Rys. 18). Gdy do grupy azometinowej podstawiona jest grupa fenylowa (2a) ubytek masy jest bardzo gwałtowny, w przypadku podstawionych pierścieni aromatycznych (2b i 2c) ubytek masy jest niższy. Natomiast w wypadku pierścieni

aromatycznych niepołączonych bezpośrednio z atomem azotu (2d i 2e) całkowity spadek masy jest jeszcze mniejszy.



Rys. 18 Wyniki analizy termograwimetrycznej.

3.7. Właściwości optyczne azometin

Zdolność związków do absorpcji i fotoluminescencji badano w rozpuszczalnikach różniących się polarnością, takich jak metanol (MeOH), dimetylosulfotlenek (DMSO), acetonitryl (ACN) i roztwór PBS/ACN. Dane spektroskopowe zebrano w Tabeli 14.

Tabela 14 Dane spektroskopowe w różnych rozpuszczalnikach.

Oznaczenie związku	Rozpuszczalnik ^a	λ_{abs} [nm] ^b ($\epsilon \cdot 10^{-4}$ [dm ³ ·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]) ^c	λ_{em} [nm] ^b	Przesunięcie Stokesa [nm]
1	ACN	305, 318	-	-
	DMSO	311, 322	-	-
	MeOH	300, 317	-	-
	PBS/ACN ^c	315	440	125
2a	ACN	320 (3.67)	-	-
	DMSO	325 (3.48)	-	-
	MeOH	322 (3.28)	-	-
	PBS/ACN ^c	315 (1.12)	440	125
2b	ACN	315 (4.00), 357 (3.09)	-	-
	DMSO	315 (3.66), 364 (2.48)	-	-
	MeOH	315 (3.95), 353 (2.39)	-	-
	PBS/ACN ^c	315 (3.89)	440	125
2c	ACN	313 (4.97)	-	-
	DMSO	318 (3.91)	-	-
	MeOH	313 (3.73)	-	-
	PBS/ACN ^c	315 (1.12)	440	125
2d	ACN	301 (5.15)	358	57
	DMSO	305 (6.64)	358	53
	MeOH	305 (4.44)	358	53
	PBS/ACN ^c	315 (2.19)	440	125

2e	ACN	300 (5.10)	407	107
	DMSO	304 (4.93)	407	107
	MeOH	301 (4.69)	365,464	64
	PBS/ACN ^c	315 (3.78)	440	125

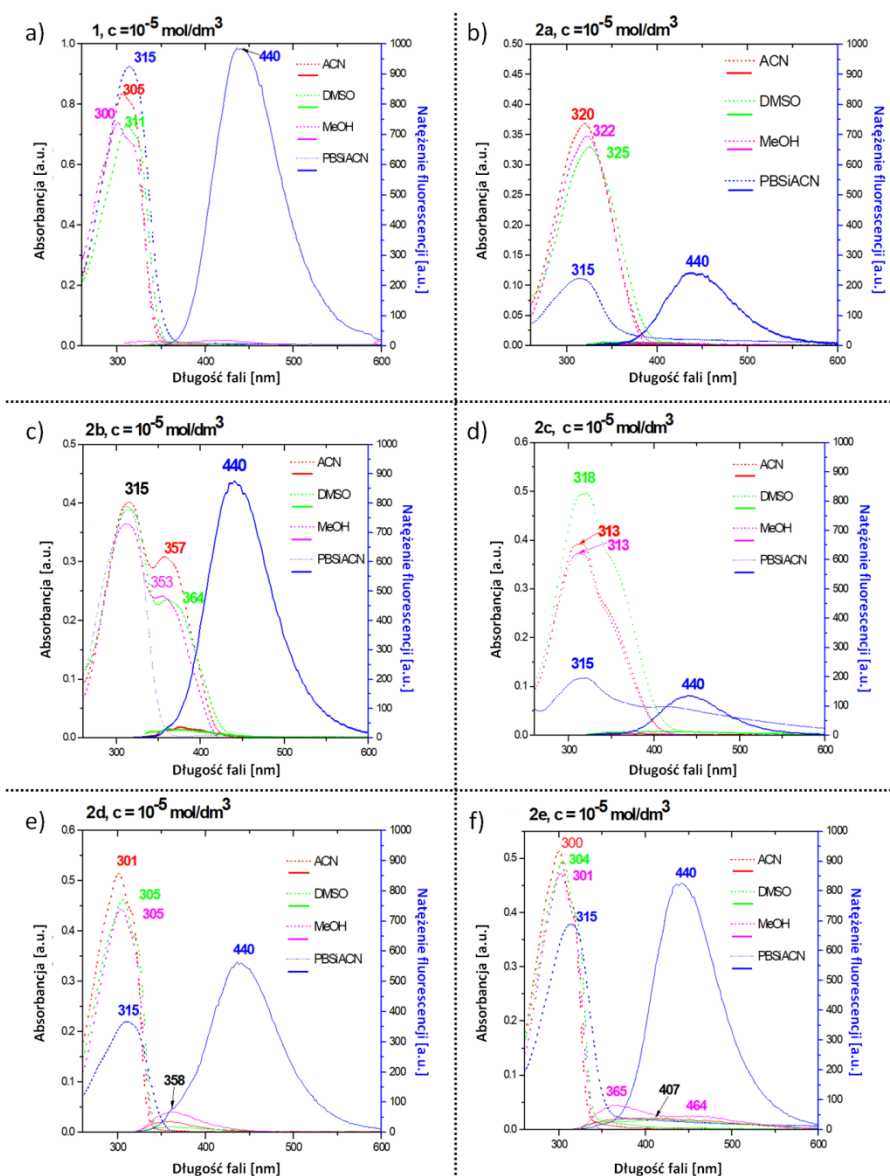
^a Stała dielektryczna rozpuszczalników: ACN (32.7), MeOH (37.5), DMSO (46.7), PBS (79.0)

^b Pomiar przy $\lambda_{ex}=310$ nm dla związku przy stężeniu 10 μ M

^c Zawartość PBS-u w mieszaninie wynosi 80% (v/v)

W badanych rozpuszczalnikach wszystkie azometyny z wyjątkiem 2b wykazały pojedyncze pasmo absorpcji w zakresie od 300 do 350 nm (*Tabela 14*) (*Rys. 19*). Związek 2b zawierający grupę hydroksylową wykazał dwa pasma absorpcji w rozpuszczalnikach organicznych (*Rys. 19*), drugie pasmo przy niższej energii jest prawdopodobnie efektem tworzenia się międzycząsteczkowych wiązań wodorowych [119]. Tylko dwa z badanych związków (2d i 2e) wykazuje nieznaczną fotoluminescencję w rozpuszczalnikach organicznych. Jednak w roztworze PBS/ACN (80% PBS, v/v) wszystkie związki wykazały wzrost intensywności emisji (*Tabela 14*, *Rys. 19*). Zaprezentowane w tym rozdziale badania wyjaśniają przyczyny zwiększenia intensywności emisji otrzymanych związków pod wpływem wody [120]. W tym celu zarejestrowano widma absorpcyjne i fluorescencyjne związku 2b w mieszaninie PBS/ACN o różnej ilości wody (fw) (*Rys. 20*). Zauważono, że stopniowe zwiększanie frakcji wodnej powoduje zanikanie pasma absorpcyjnego w zakresie 350-400 nm (*Rys. 20a*). Natomiast w czystym roztworze acetonitrylu (ACN) związek 2b wykazywał bardzo słabą fluorescencję, lecz wraz ze wzrostem zawartości frakcji wodnej intensywność fluorescencji również wzrastała (*Rys. 20b*). Ponadto stopniowe dodawanie wody spowodowało przesuwanie się maksimum emisji w stronę wyższych wartości, co może wskazywać na solwatochromizm [121]. Niemniej jednak zmiana intensywności fluorescencji wskazuje na emisję indukowaną agregacją (AIE), wywołaną ograniczeniem ruchów wewnątrzcząsteczkowych tworzących się agregatów. Proces ten można wytłumaczyć zablokowaniem relaksacji bezpromienistej (ruchu cząsteczki) umożliwiając w ten sposób relaksację promienistą, czyli emisję promieniowania. Ograniczenia ruchu wewnątrzcząsteczkowego (RIM) możemy podzielić na ograniczenie wewnątrzcząsteczkowej rotacji (RIR) oraz wibracji (RIV). Z reguły związki organiczne zdolne do emisji indukowanej agregacją (AIEgens) nie wykazują emisji w rozpuszczalnikach niepolarnych bądź słabo polarnych, jednak gdy jego cząsteczki

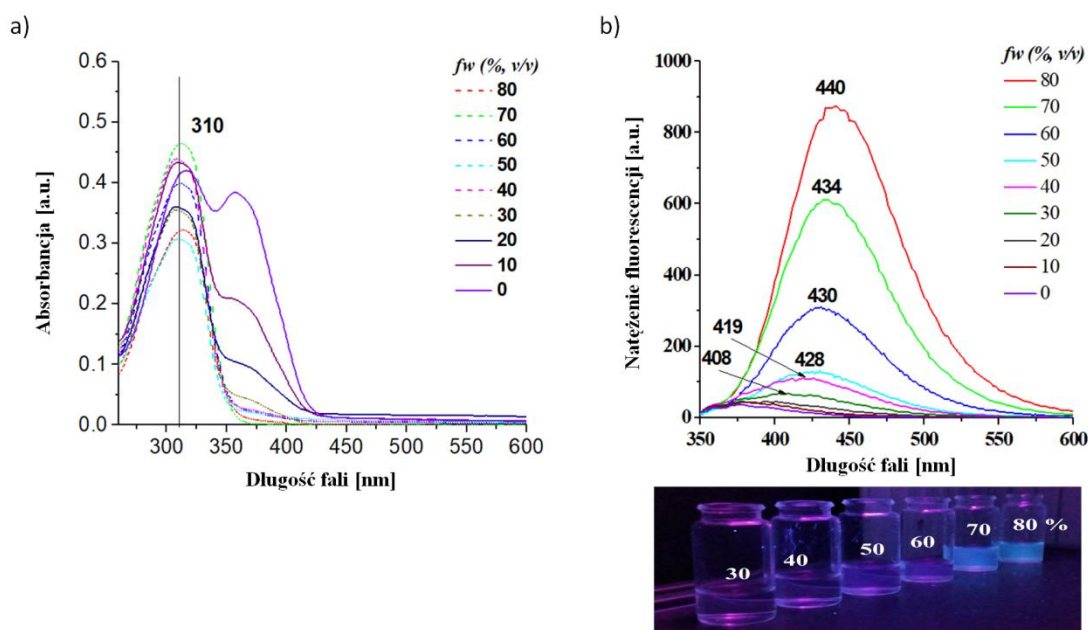
agregowane są w rozpuszczalnikach polarnych obserwujemy silny wzrost emisji [122,123]. Jedną z grup aktywnych AIEgens stanowią azometyny, dla których zastosowanie jest szeroko rozpowszechnione [122,124] głównie w optoelektronice [125] oraz w postaci czujników biologicznych [126] i chemicznych [127].



Rys. 19 Widma fluorescencyjne i UV-VIS w różnych rozpuszczalnikach dla **a)** 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu i **b)-f)** azometin.

Innym godnym analizy problemem jest zdolność azometin do hydrolizy. Zatem w dalszej części pracy rozważano czy zmiany właściwości fluorescencji w obecności wody

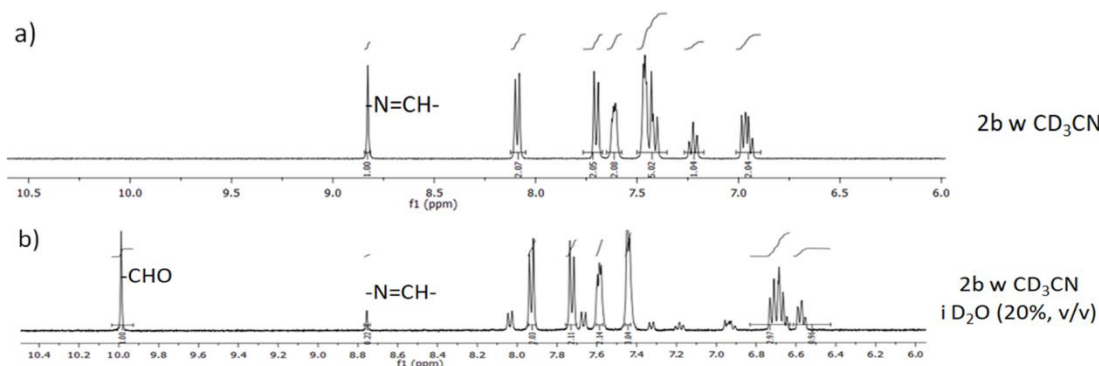
mogą wynikać z hydrolizy azometyny [128]. Zważając na fakt, że maksimum emisji i absorpcji w układzie PBS/ACN są takie same we wszystkich azometinach jak i w macierzystym 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydzie (*Tabela 14*) najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem zachodzących zmian jest częściowa hydroliza azometin, a następnie indukowana emisja spowodowana agregacją powstającego aldehydu. Agregacja tego typu polega na tworzeniu zorganizowanych struktur przestrzennych w wyniku oddziaływań międzycząsteczkowych, takich jak siły van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne, wiązania wodorowe oraz oddziaływania typu π - π . Ostatnie dwa rodzaje oddziaływań są szczególnie istotne dla właściwości AIE aldehydów [129,130]. Intensywna agregacja prowadzi do powstania układów koloidalnych/zawiesin (obserwowane zmętnienie roztworów od 50% fw. wzwyż), w których fazą rozproszoną są zagregowane cząsteczki aldehydu (*Rys. 20b wstawka*). Zauważyć należy, że intensywności emisji poszczególnych azometin różnią się od siebie, co wytłumaczyć można ich różnymi stopniami hydrolizy.



Rys. 20 Widma związku 2b w mieszaninie PBS/ACN o różnej ilości frakcji wodnej (fw)
a) widmo absorpcyjne; **b)** widmo fluorescencyjne ($\lambda_{ex}=310$ nm).

Dowodem potwierdzającym obecności produktów hydrolizy w wodnych roztworach azometin jest analiza widm ^1H NMR, przeprowadzona w acetonitrylu (CD_3CN)

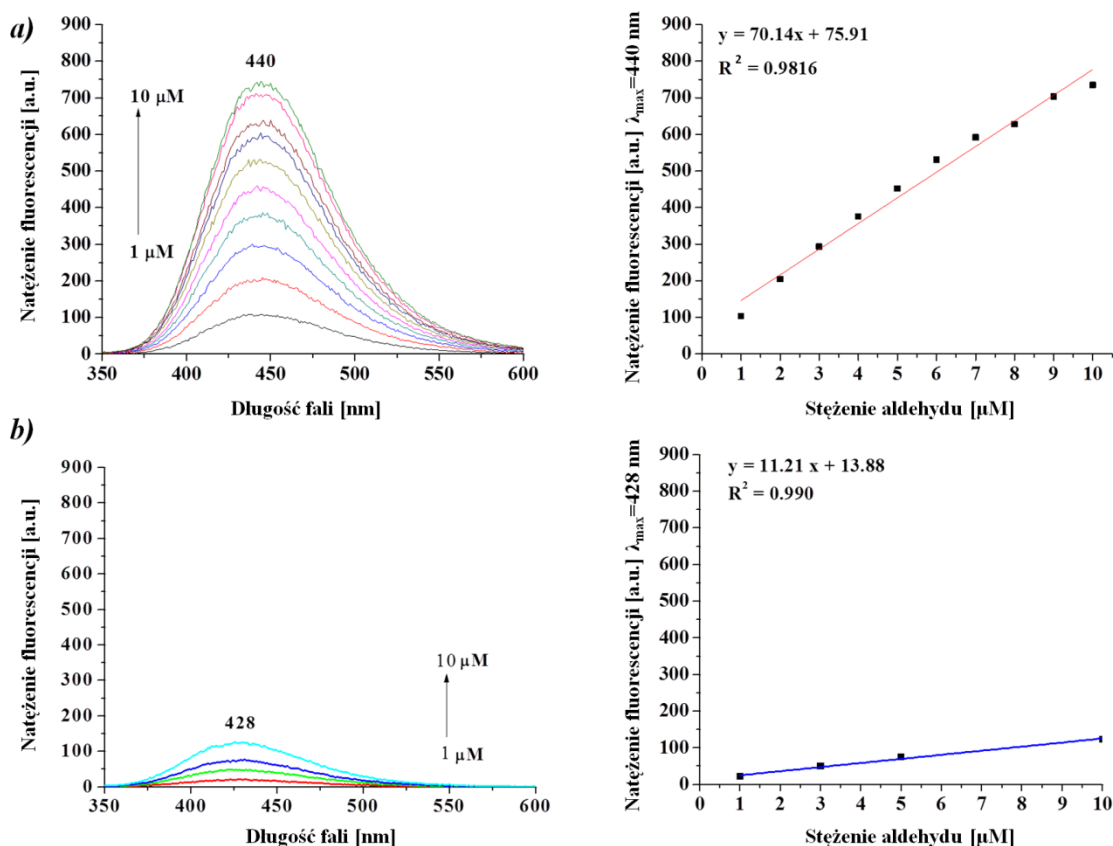
oraz w acetonitrylu z dodatkiem ciężkiej wody ($\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$). Porównanie widm ^1H NMR pokazano na Rysunku 21. W czystym acetonitrylu (Rys. 21a) nie obserwujemy sygnałów grupy aldehydowej $-\text{CHO}$ (10 ppm) i o-aminofenolu (6,5-6,8 ppm), jednak po dodaniu niewielkiej ilości ciężkiej wody sygnały te pojawiają się a sygnał grupy azometinowej $-\text{N}=\text{CH}-$ (8,75 ppm) słabnie, co świadczy o przebiegu hydrolizy (Rys. 21b).



Rys. 21 Analiza widm ^1H NMR związku 2b w rozpuszczalniku: **a)** CD_3CN , **b)** $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$.

W celu dodatkowego potwierdzenia hydrolizy i agregacji powstającego aldehydu przeprowadzono pomiary fluorescencyjne 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu w dwóch układach PBS/ACN zawierających 80% i 50% PBS (v/v). Do badań zastosowano aldehyd o stężeniach w zakresie od 1 do 10 μM . W obu układach zaobserwowano liniowy wzrost emisji wraz ze wzrostem stężenia aldehydu. Z kolei porównując przebadane układy można zauważyć znaczną różnicę w intensywności oraz maksimum pasma emisji (Rys. 22). W układzie zawierającym 80% PBS intensywność pasma przy 440 nm jest znacznie większa niż intensywność pasma przy 428 nm dla układu 50% PBS. Zaobserwowany wzrost intensywności emisji aldehydu potwierdza przypuszczenie, że emisja azometin indukowana jest przez agregację aldehydu a nie azometiny. Badany 4-(2-fenyletynylo)benzaldehyd podobnie jak azometiny nie wykazywał fluorescencji w żadnym rozpuszczalniku organicznym (Rys. 19a), natomiast w mieszaninie $\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ (PBS) intensywność emisji rosła wraz ze wzrostem ilości fazy wodnej (Rys. 22). Zaobserwowany wzrost emisji azometin w rozpuszczalnikach wodnych (Rys. 19) jest więc wynikiem właściwości agregacyjnych (AIE) powstającego podczas hydrolizy 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu. Zbadano dodatkowo właściwości luminescencyjne o-

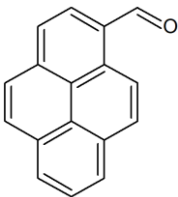
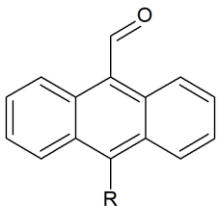
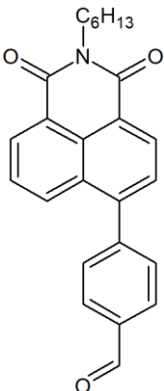
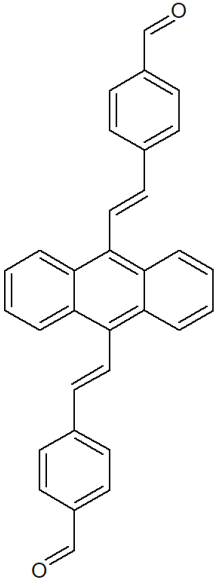
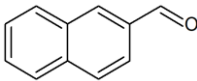
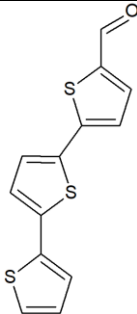
aminofenolu, ale wyniki pokazały jednoznacznie, że w tych warunkach amina nie jest substratem fluorogennym.

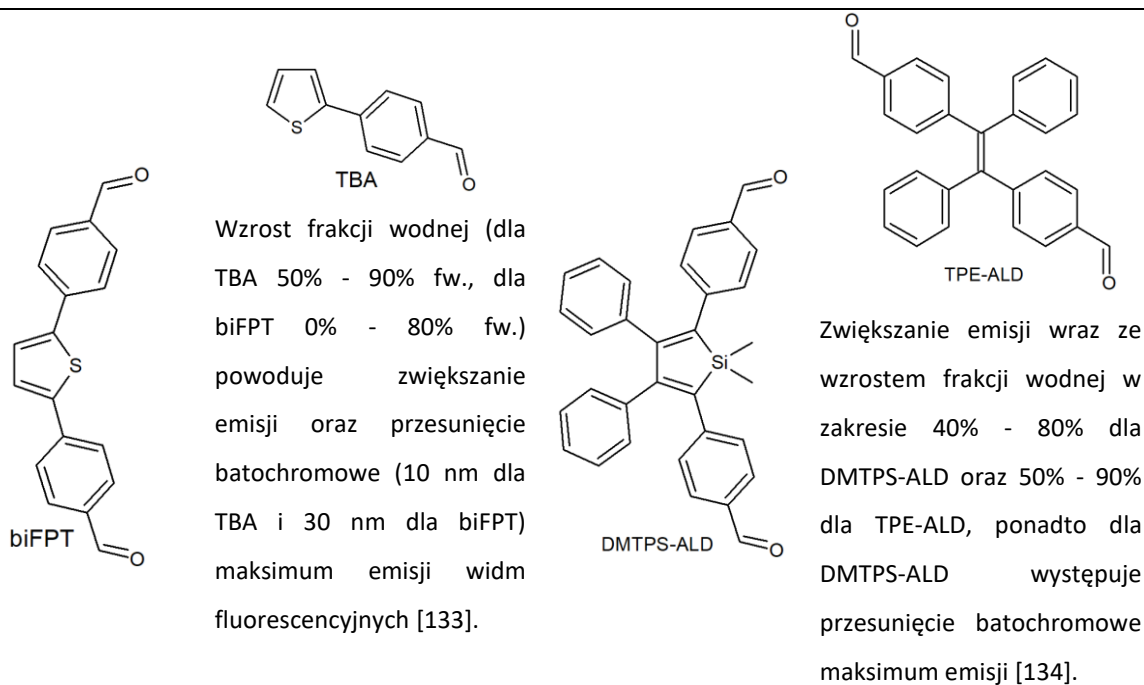


Rys. 22 Intensywność emisji i jej liniowa zależność od stężenia 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu w układzie PBS/ACN zawierającym (v/v): **a)** 80 % PBS, **b)** 50% PBS.

Zjawisko agregacji aldehydu powstającego z hydrolizy azometyny zostało opisane w literaturze [128]. Wiele innych aldehydów również wykazuje właściwości AIE, niektóre z nich zestawiono w Tabeli 15. Analizując poniższe aldehydy można zauważyć podobieństwo w ich budowie, mianowicie wszystkie posiadają rozbudowaną strukturę układów π sprzężonych, podobnie jak badany w niniejszej pracy 4-(2-fenyletynylo)benzaldehyd. Można wysnuć wniosek, że obecność sprzężonych układów w strukturze aldehydów jest konieczna dla ich właściwości agregacyjnych.

Tabela 15 Aldehydy wykazujące emisję indukowaną agregacją (AIE) wraz z omówieniem ich właściwości.

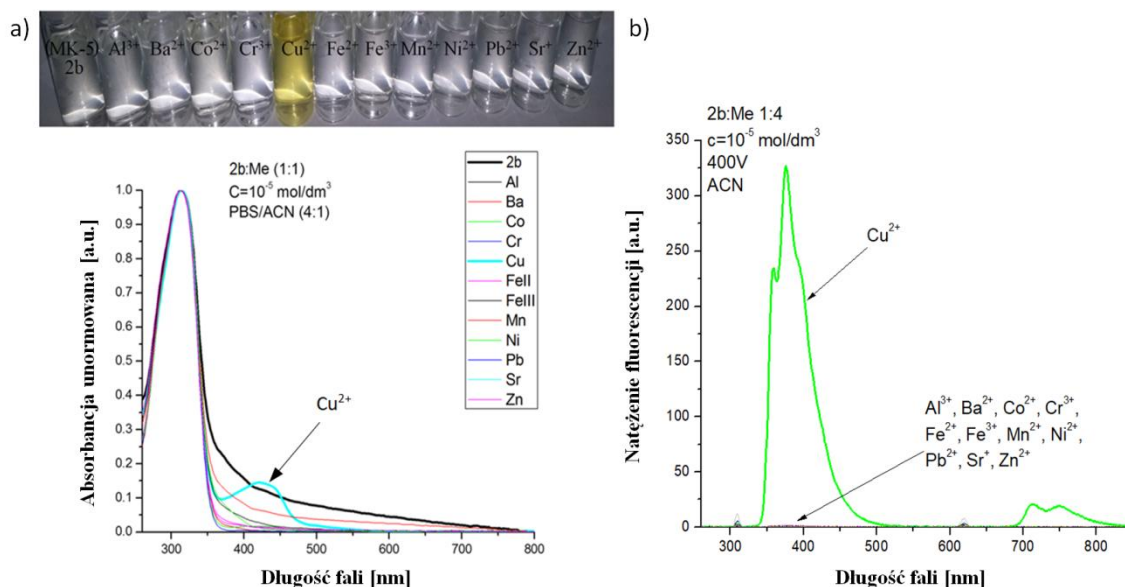
	<p>Zwiększanie emisji oraz przesunięcie batochromowe maksimum emisji widm fluorescencyjnych (~450 nm) wraz ze wzrostem frakcji wodnej [128].</p>	 <p>R = H, CHO</p>	<p>Wraz ze wzrostem frakcji wodnej (dla R=CHO od 50% fw.) następuje zwiększanie emisji (maksymalna emisja w 90% fw.) oraz przesunięcie batochromowe (30 nm dla R=H i 60 nm dla R=CHO) maksimum pasma widm fluorescencyjnych [129].</p>
	<p>Grupa aldehydowa jest niezbędna dla właściwości AIE tego związku. Wzrost intensywności emisji wraz ze wzrostem frakcji wodnej do 60% oraz niewielkie przesunięcie batochromowe maksimum emisji widm fluorescencyjnych [131].</p>		<p>Wzrost frakcji wodnej (40% - 90% fw.) powoduje zwiększanie emisji oraz przesunięcie batochromowe (z 543 nm na 554 nm) maksimum emisji widm fluorescencyjnych [132].</p>
	<p>Przyrost frakcji wodnej skutkuje zanikaniem pasma emisji w zakresie 300-375 nm, od 30% fw. następuje wzrost pasma 400-500 nm [128].</p>		<p>Wzrost emisji wraz z zwiększaniem frakcji wodnej do 70% oraz przesunięcie batochromowe maksimum emisji o 60 nm dla widm fluorescencyjnych [130].</p>



3.8. Właściwości kompleksujące iminowego analogu resweratrolu (IRA)

Azometyny tworzą stabilne związki kompleksowe z metalami grup przejściowych (Podrozdział 2.1.3.). Szczególnie stabilnymi kompleksami są związki wykorzystujące azometyny zawierające kilka atomów donorowych jak na przykład azometyna 2b, która jest pochodną 2-aminofenolu i stanowi iminowy analog resweratrolu (IRA). Podobne związki 2-aminofenolu znane są już w literaturze jako ligandy aktywne redoks [135-137]. Przeprowadzono więc serię selektywnych prób kompleksowania azometyny 2b z różnymi jonami metali (Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+}) w roztworze ACN oraz PBS/ACN (80% PBS, v/v). Roztwór azometyny 2b zmieszano z odpowiednią ilością roztworu jonu metalu i rozcieńczono acetonitrylem lub mieszaniną acetonitryl/PBS do wymaganego stężenia (10^{-5} mol/l). Wszystkie widma absorpcji i fotoluminescencji zmierzono w temperaturze pokojowej po 2 godzinach od przygotowania próbek. W obu systemach rozpuszczalników zaobserwowano wpływ jonów miedzi na właściwości optyczne azometyny 2b. W roztworze ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v) dodanie jonów miedzi(II) powoduje powstanie nowego pasma absorpcji od 400 do 450 nm z maksimum przy 434 nm (Rys. 23a). Natomiast w czystym roztworze acetonitrylu

zaobserwowano intensywne dwa pasma emisji w zakresach 350 - 450 i 700 - 800 nm tworzące się tylko w przypadku jonów miedzi (Rys. 23b).

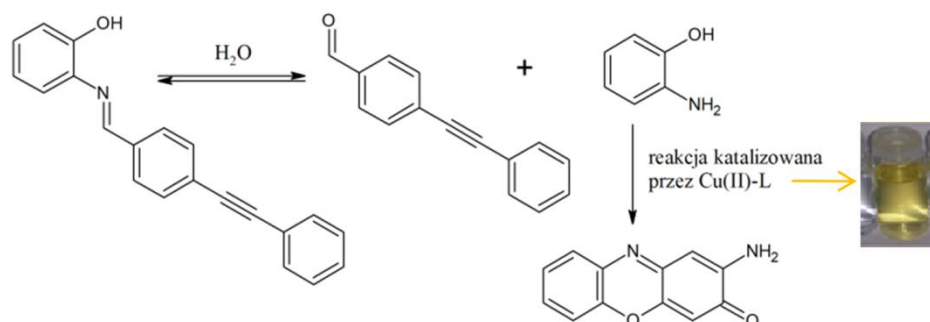


Rys. 23 a) Nałożone widma absorpcyjne związku 2b (10 μM) w mieszaninie ACN/PBS (80% PBS, v/v) w obecności badanego jonu metalu (10 μM); **b)** Nałożone widma fluorescencyjne związku 2b (10 μM) w acetonitrylu w obecności badanego jonu metalu (40 μM), wzbudzenie przy długości fali $\lambda_{\text{ex}}=310$ nm.

3.8.1. Wizualne wykrywanie jonów miedzi w środowisku wodnym

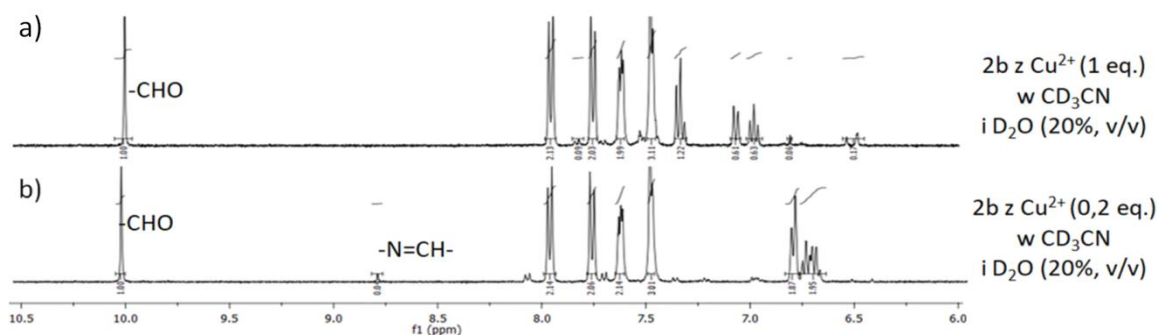
Zaobserwowane zmiany w widmie absorbcyjnym iminowego analogu resweratrolu w obecności jonów miedzi w środowisku wodnym (Rys. 23a) mogą być związane z tworzeniem kompleksu miedzi z aktywnym ligandem redoks 2b [135-137], jak również z utlenianiem o-aminofenolu [138]. Jednak z uwagi na obecność produktów hydrolizy azometin utleniające sprzężanie o-aminofenolu jest bardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem. Wyniki te skłoniły mnie do przeprowadzenia szerzej zakrojonych badań, określających możliwości selektywnego oraz ilościowego badania zawartości miedzi w próbce wody. Przeprowadzono w tym zakresie dokładne badania selektywności, wpływu środowiska (pH, ACN itp.), temperatury, ilości miedzi oraz czasu na oznaczanie miedzi przez azometinę 2b. W toku przeprowadzonych eksperymentów zaproponowano również możliwy mechanizm wizualnego oznaczania miedzi w próbce wody przy wykorzystaniu związku 2b (IRA) (Rys. 24). Mechanizm ten opiera się na utlenianiu o-aminofenolu, uwalnianego podczas hydrolizy iminy. Zatem przedstawione w tym rozdziale

badania pozwoliły na opracowanie metody wizualnego i ilościowego oznaczania jonów miedzi w wodzie pitnej przy zastosowaniu związku 2b (IRA) lub o-aminofenolu [139]. Zaletą metody jest szybkość i niski koszt, którym towarzyszą wysoka dokładność i precyzja pomiaru.



Rys. 24 Reakcja hydrolizy azometyny 2b i katalizowane kompleksem Cu(II)-L utlenianie o-aminofenolu – proponowany mechanizm wizualnego wykrywania jonów miedzi w środowisku wodnym przy użyciu azometyny 2b.

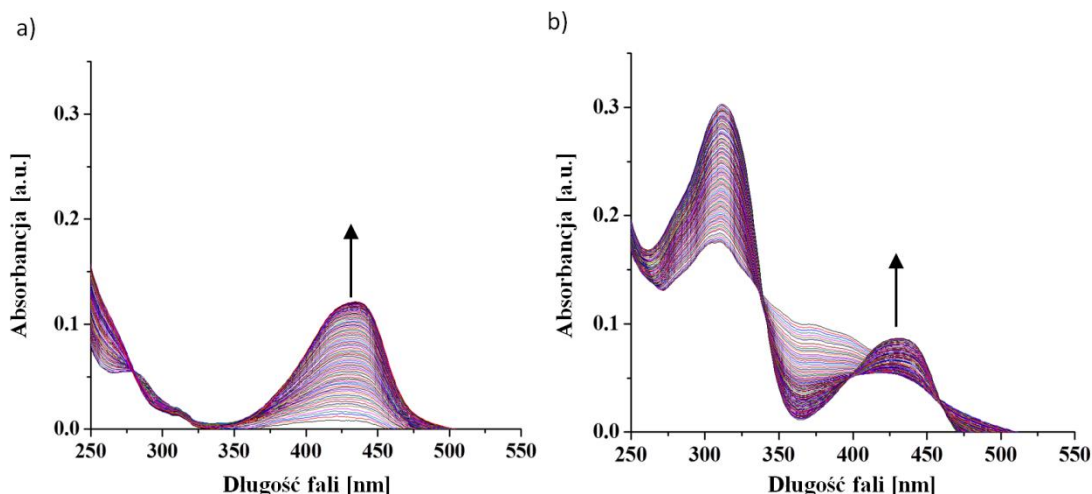
Jak pokazano we wcześniejszych badaniach, prezentowane azometyny ulegają hydrolizie w środowisku wodnym (Rozdział 3.7.). Ponadto na podstawie analizy widm ^1H NMR stwierdzono, że obecność jonów miedzi może zwiększać stopień hydrolizy (Rys. 25), co ma również odzwierciedlenie w danych literaturowych [29].



Rys. 25 Analiza widm ^1H NMR związku 2b w obecności Cu^{2+} w ilości: **a)** 1 eq., **b)** 0,2 eq.

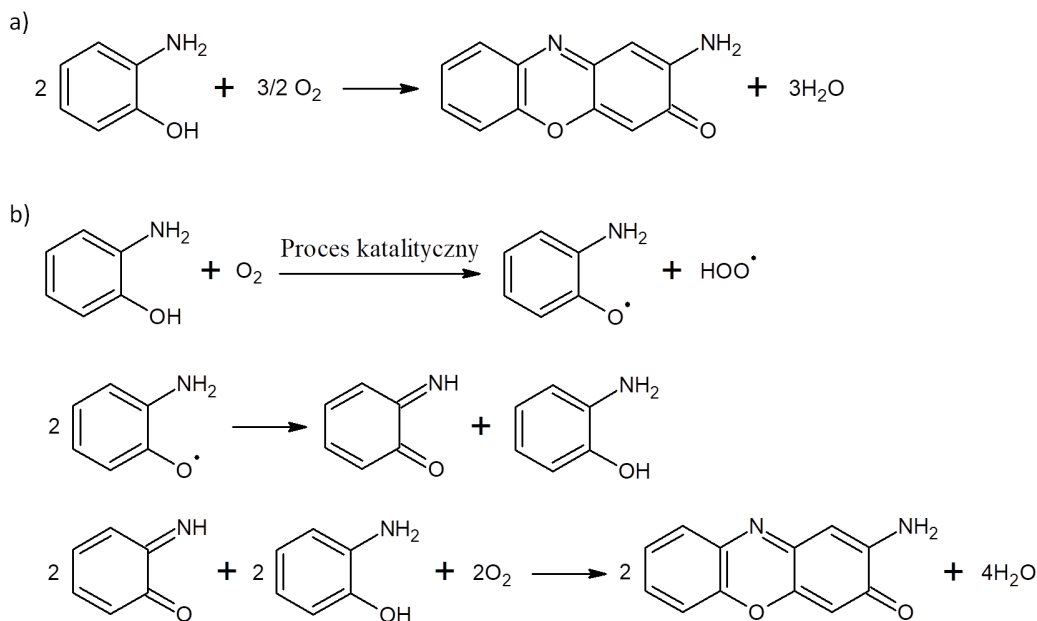
W celu potwierdzenia zaproponowanego mechanizmu, czyli utleniania o-aminofenolu, zbadano kinetykę zachodzących zmian dla azometyny 2b oraz o-aminofenolu pod wpływem jonów miedzi. Badania wykonano w temperaturze pokojowej w środowisku ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v). Zmiany zachodzące w obu układach śledzono przez jedną

godzinę, wykonując co minutę pomiar absorpcji (Rys. 26). Dla azometyny jak i o-aminofenolu zaobserwowano podobny model działania względem jonów miedzi, co związane było ze wzrostem pasma w czasie obejmującego zakres 375–475 nm.



Rys. 26 Badania kinetyczne w temperaturze pokojowej w środowisku ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v) z dodatkiem 30 μ M miedzi dla: **a)** o-aminofenolu (10 μ M), **b)** azometiny 2b (10 μ M). Zmiany na wykresie związane są z nakładaniem widm absorbcyjnych, mierzonych w danym układzie co minutę przez jedną godzinę.

Utleniające sprzężenie o-aminofenolu (OAP) jest reakcją rodnikową powodującą powstanie 2-amino-3H-fenoksazyn-3-onu inaczej Questiomycyny A (Rys. 27a). Wiele z opisanych w literaturze badań stosuje w charakterze utleniacza systemy nasycone cząsteczkami tlenu lub powietrzem [138]. Ponadto możliwe jest użycie w tym celu nadtlenu wodoru [140]. Na proces utleniania o-aminofenolu wpływa temperatura oraz pH użytego środowiska. Jak podano w literaturze, reakcja w bardzo kwaśnym środowisku nie zachodzi, natomiast środowisko o pH powyżej 9 powoduje znaczny spadek szybkości reakcji [141]. Proces autooksydacji o-aminofenolu przy neutralnym pH i w temperaturze 25-30°C jest bardzo wolny i może trwać nawet do 23 dni [142]. Zjawisko to można przyspieszyć stosując katalizatory tworzące wolne rodniki, wśród takich katalizatorów są sole miedzi (np.: CuCl_2) [138] oraz wiele związków kompleksowych głównie miedzi [141,143], kobaltu [144], manganu [145], cynku [146] oraz żelaza [140]. Katalizator inicjuje tworzenie rodnika o-aminofenoksyłowego, przy czym kolejne etapy tej reakcji mogą toczyć się samoistnie bez wspomagania katalizacyjnego (Rys. 27b) [138].

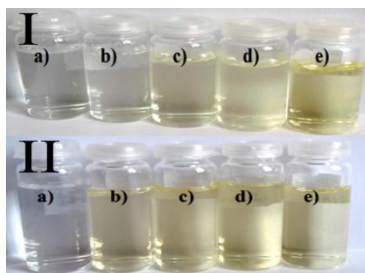


Rys. 27 Utlenianie o-aminofenolu: **a)** ogólne równanie, **b)** uproszczony mechanizm [138].

Zatem opracowana metoda pozwala na przyspieszenie utleniania o-aminofenolu, co umożliwia wykrycie a nawet określenie stężenia miedzi w badanej próbce. Nieznaczne podwyższenie temperatury może sprzyjać przyspieszeniu reakcji, dlatego też badania wykonywano zarówno w temperaturze pokojowej jak również w nieco podwyższonej (50 °C). W dalszej części pokazano wpływ różnych czynników na metodę oznaczania.

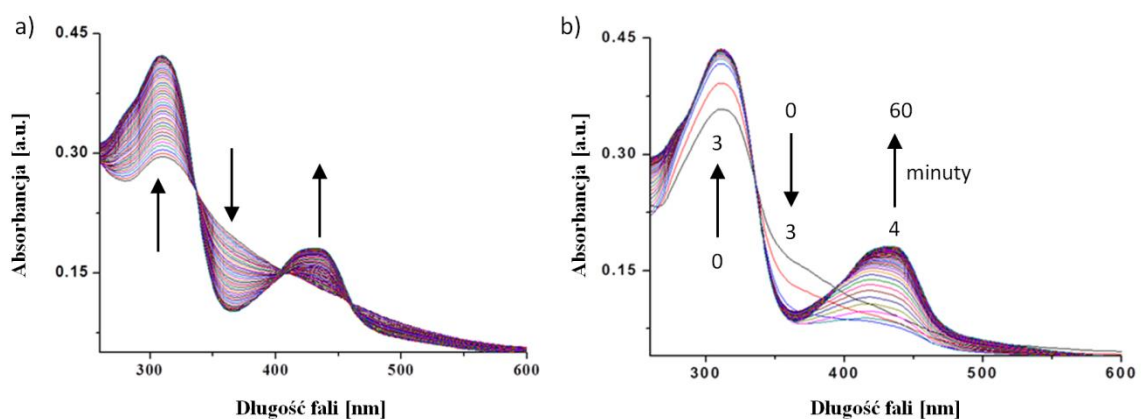
3.8.1.1. Badanie wpływu środowiska na oznaczenie miedzi

Zaproponowana w pracy metoda oznaczania jest metodą wizualną, dlatego w pierwszej kolejności przeprowadzono badania zmian intensywności zabarwienia próbek z różnymi rozpuszczalnikami (*Rys. 28*) tj. w układach z: wodą (b), ACN/H₂O (c), PBS (d) i ACN/PBS (e). Zauważono, że po dwóch godzinach mieszania w temperaturze pokojowej kolor układu ACN/PBS był najbardziej intensywny. Jednak po 24 godzinach wszystkie roztwory były niemalże identyczne (*Rys. 28*).



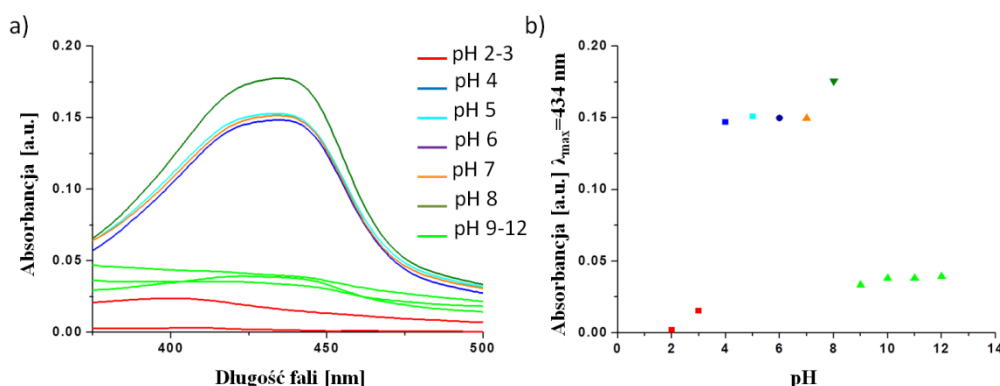
Rys. 28 Wizualne wykrywanie Cu^{2+} ($10 \mu\text{M}$) za pomocą azometyny 2b ($10 \mu\text{M}$) w: **a)** ACN / H_2O (80% H_2O , v/v) bez azometyny, **b)** H_2O ; **c)** ACN/ H_2O (80% H_2O , v/v); **d)** 0,1 M PBS; **e)** ACN/PBS (fw, 80% 0,1 M PBS, v/v); **I)** po 2 godzinach; **II)** po 24 godzinach.

W celu lepszego zrozumienia uzyskanych wyników, przeprowadzono badania kinetyczne w temperaturze 50°C w dwóch układach: PBS i ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v). Nałożone widma UV-Vis obu układów mierzonych co minutę przez jedną godzinę przedstawiono na *Rysunku 29*. Zauważono, że zmiany pasma w zakresie 375–475 nm dla układu z dodatkiem acetonitrylu zachodzą szybciej, co związane jest widocznym zwiększaniem się intensywności pasma z każdą minutą zachodzącej reakcji. Natomiast zmiany w układzie z samym PBS zachodzą znacznie wolniej. Na tej podstawie można stwierdzić, że dodatek acetonitrylu znacznie przyspieszył zachodzącą reakcję. Ponieważ autooksydacja o-aminofenolu jest reakcją rodnikową, to jedynym wyjaśnieniem wpływu dodatku ACN na przyspieszenie reakcji może być tworzenie się wolnych rodników z acetonitrylu [147-149].



Rys. 29 Badania kinetyczne reakcji między azometiną 2b ($10 \mu\text{M}$) a Cu^{2+} ($10 \mu\text{M}$) w 50°C w ciągu godziny w środowisku: **a)** PBS, **b)** ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v). Zmiany na wykresie związane są z nakładaniem widm absorbcyjnych, mierzonych w danym układzie co minutę przez jedną godzinę.

W dalszym toku badań sprawdzono wpływ pH na przebieg reakcji między azometiną 2b (10 μM) a Cu^{2+} (10 μM) w zakresie pH 2-12 dla układu woda/acetonitryl. Powstanie pasma absorpcji w zakresie 375-475 nm jest wyraźnie widoczne przy pH 4-8, natomiast przy pH <4 i pH > 8 nie zaobserwowano powstawania pasma (Rys. 30). W związku z czym reakcja z badaną azometiną zachodzi w roztworach o pH od 4 do 8, co daje podobny rezultat jaki otrzymano w badaniach procesu utleniania o-aminofenolu [141,150]. Zatem utrzymanie stałego pH jest kluczowe dla postępu reakcji, co jest ważne dla prawidłowego oznaczenia miedzi w próbce. Otrzymane wyniki uzasadniają zatem konieczność stosowania buforu (w tym przypadku fosforanowego, PBS, pH = 7,4) jako środowiska reakcji w celu prawidłowego przeprowadzenia testów.

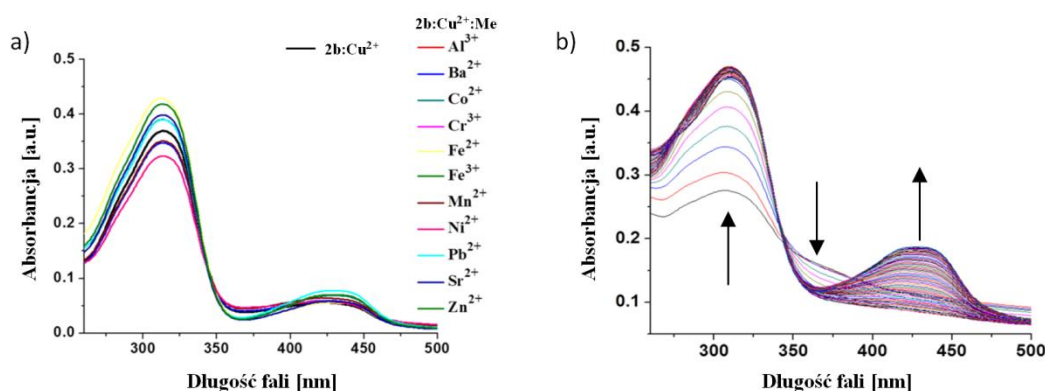


Rys. 30 Badania wpływu pH na reakcję pomiędzy związkiem 2b (10 μM) a miedzią Cu^{2+} (10 μM) w roztworze woda/acetonitryl (80% H_2O , v/v).

3.8.1.2. Badanie selektywności metody

Zbadano również wpływ innych jonów (Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} i Zn^{2+}) i anionów (Cl^- , Br^- lub CH_3COO^-) na reakcję. Najpierw zmierzono widma UV-Vis dla badanego związku 2b z Cu^{2+} (10 μM) i dodatkowym jonem (10 μM , dla każdego jonu z osobna) w równomolowych ilościach, po dwóch godzinach od przygotowania roztworu w temperaturze pokojowej. Otrzymane widma różnią się intensywnością pasma w zakresie 250-350 nm, co związane może być z różnym stopniem hydrolizy azometyny. Z kolei w przypadku pasma w zakresie 375-475 nm świadczącego o zachodzeniu reakcji utleniania o-aminofenolu różnice są nieznaczne (Rys. 31a). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wpływ dodatkowego kationu na

oznaczanie miedzi był znikomy. Należy podkreślić, że nie stwierdzono aktywności katalitycznej w układzie opracowanym indywidualnie dla każdego kationu (*Rys. 23a*). Ponadto zbadano kinetykę reakcji dla roztworu zawierającego wszystkie kationy (po 10 μM) oraz miedź (30 μM). Badania kinetyczne w obecności wszystkich kationów (*Rys. 31b*) wykazały identyczny model działania jak badania w obecności samej miedzi (*Rys. 29b*). Otrzymane wyniki dodatkowo potwierdzają brak zachamowania reakcji związanej z obecnością badanego kationu czy anionu. Wyniki uzyskane w tych dwóch eksperymentach świadczą o wysokiej selektywności metody względem jonów miedzi znajdujących się w środowisku wodnym.

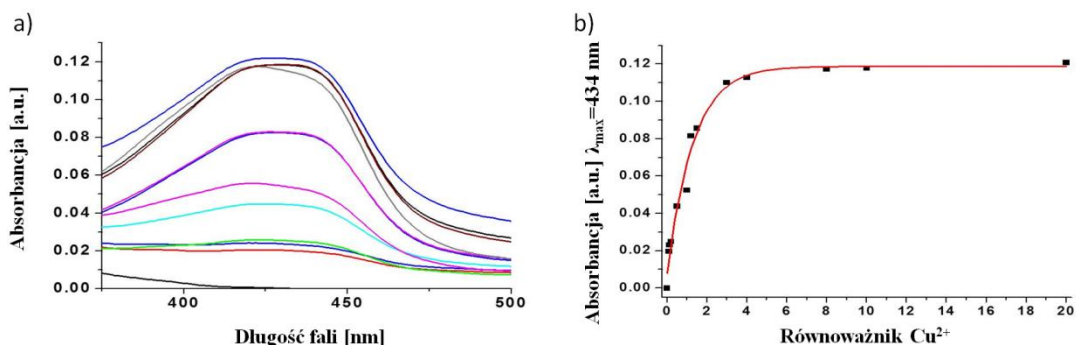


Rys. 31 Badanie selektywności azometiny 2b (10 μM) w roztworze ACN/PBS (80% PBS, v/v): **a)** względem innych kationów (10 μM) w temperaturze pokojowej i w obecności miedzi (10 μM), **b)** w mieszaninie wszystkich kationów (po 10 μM każdy) i miedzi (30 μM) w 50°C w przeciągu 2 godzin - badania kinetyczne.

3.8.1.3. Badanie wpływu stężenia miedzi na oznaczanie

Miareczkowanie spektrofotometryczne przeprowadzono przy użyciu roztworu związku 2b w ACN/PBS (80% 0.1 M PBS, v/v, pH=7,4) w obecności różnych ilości Cu^{2+} (w zakresie od 0 do 20 równoważników). Pomiary wykonano w temperaturze pokojowej po 2 godzinach od dodania jonów miedzi. Absorpcja pasma 375-475 nm stopniowo wzrastała wraz ze wzrostem ilości miedzi (*Rys. 32a*), jednak przy około 4 równoważnikach maksymalny współczynnik absorpcji molowej osiągał maksimum (*Rys. 32b*). Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na zależność między szybkością reakcji a stężeniem miedzi w próbce, gdzie zwiększenie stężenia miedzi powoduje wzrost szybkości reakcji. Wyniki te pokazują możliwość opracowania wizualnej metody, pozwalającej na oznaczenie

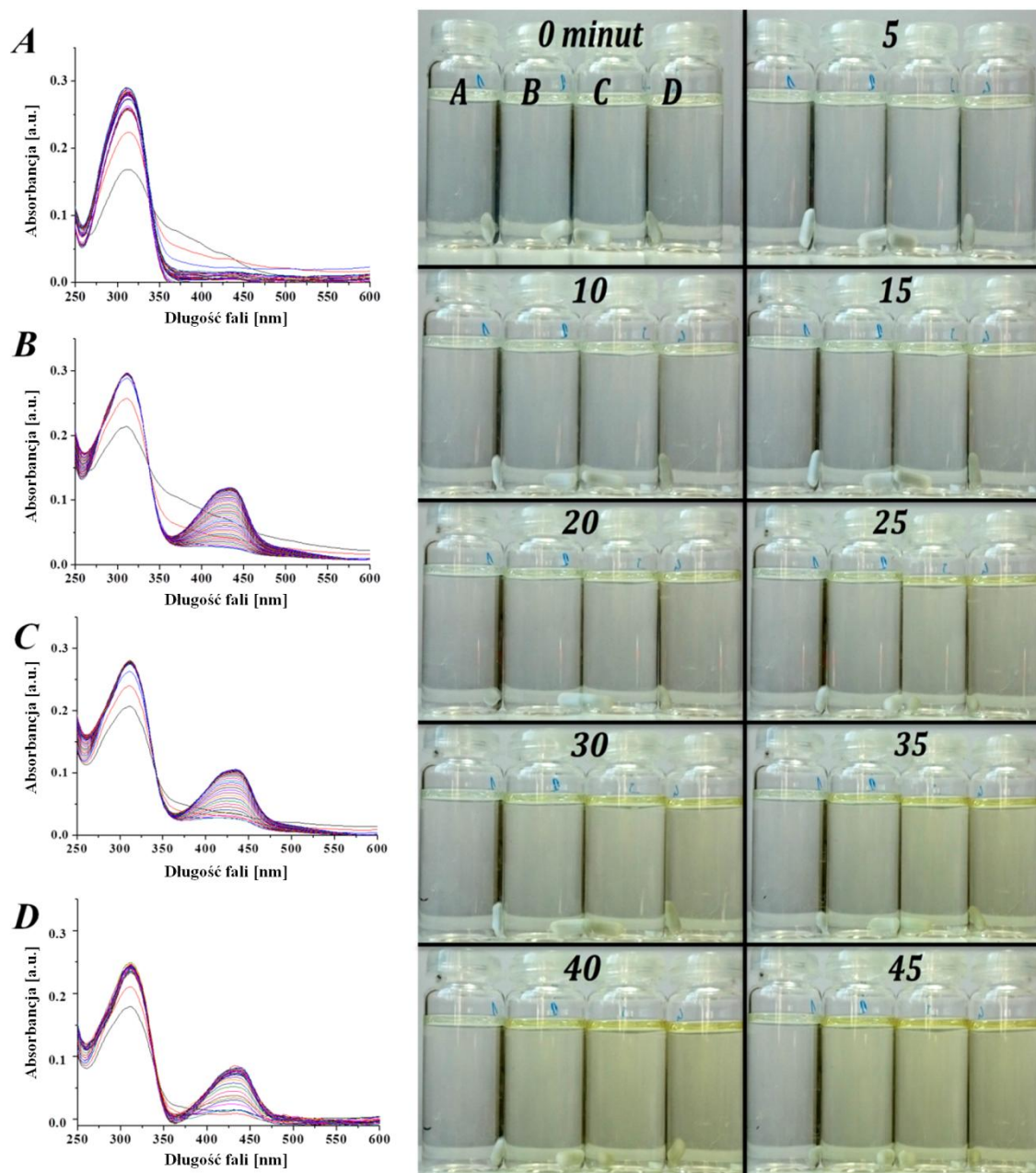
zawartości miedzi w próbce wody. Metodę taką opracowano a jej wyniki opisano w kolejnym podrozdziale.



Rys. 32 Pomiar absorbancji związku 2b (10 μM) w roztworze ACN/PBS (80% PBS, v/v) w obecności różnej ilości jonów miedzi(II) w zakresie od 0 do 20 równoważników: **a)** widma absorpcyjne; **b)** molowy współczynnik absorpcji przy długości 434 nm w zależności od zawartości miedzi w próbce.

3.8.1.4. Oznaczanie miedzi w próbce wody

Metodę oznaczania miedzi w rzeczywistej próbce wody (Rys. 33) opracowano na podstawie przedstawionych wcześniej wyników badań. Do analizy wykorzystano wodę kranową z ujęcia wodociągowego. Niniejsza metoda pozwala przede wszystkim na określenie czy w badanej próbce nie jest przekroczona dopuszczalna wartość miedzi (30 μM). W celu dokonania analizy, przygotowano cztery roztwory zawierające po 7 cm^3 roztworu stanowiącego ośrodek reakcji (ACN/PBS 80% 0,1 M PBS, v/v) oraz po 3 cm^3 : A) badanej wody, B) wody destylowanej z 0,05 cm^3 roztworu Cu^{2+} (1 mM w H_2O) – 5 μM , C) wody destylowanej z 0,1 cm^3 roztworu Cu^{2+} (1 mM w H_2O) – 10 μM , D) wody destylowanej z 0,2 cm^3 roztworu Cu^{2+} (1 mM w H_2O) – 20 μM . Na koniec do każdego roztworu dodano po 0,1 cm^3 roztworu azometyny 2b (1 mM w DMSO) – 10 μM . Reakcję prowadzono w temperaturze 50 $^\circ\text{C}$ przez 45 minut, obserwując zachodzące w nich wizualne zmiany. Dla tych próbek prowadzono również badania kinetyczne, w sposób ciągły mierząc ich absorbancję.



Rys. 33 Badania kinetyczne reakcji za pomocą spektroskopii UV-VIS (po lewej) i wizualne oznaczenie jonów miedzi w wodzie (po prawej) zgodnie z opisaną procedurą: A) testowana woda, B) układ z 5 μM Cu^{2+} , C) układ z 10 μM Cu^{2+} , D) układ z 20 μM Cu^{2+} .

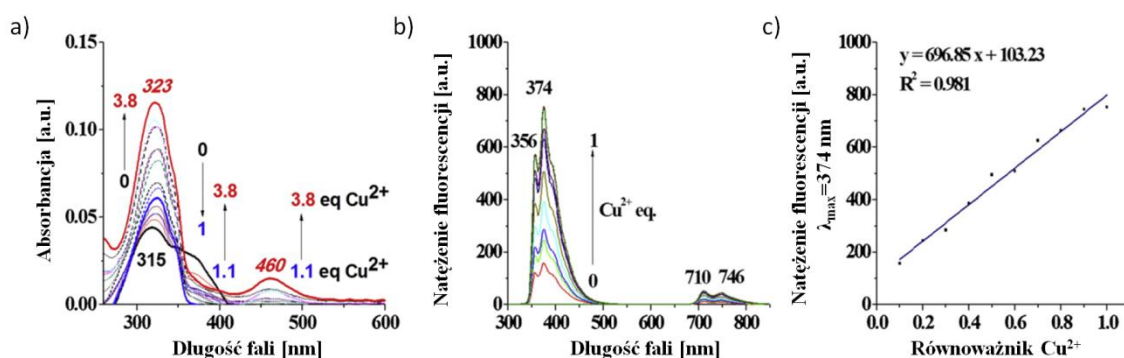
Zauważono, że w próbkach wzorcowych w trakcie mieszania pojawiła się żółta barwa roztworu świadcząca o obecności miedzi. W pierwszej kolejności zabarwienie pojawiło się w roztworze zawierającym 20 μM miedzi (Rys. 33D) a następnie kolejno w roztworze z 10 μM (Rys. 33C) i 5 μM (Rys. 33B) miedzi. Ponadto widoczna była zależność intensywności barwy od ilości miedzi w próbce. Nie zaobserwowano widocznych zmian

w próbce badanej wody (*Rys. 33A*). Na tej podstawie można stwierdzić, że poziom miedzi w badanej wodzie jest poniżej dopuszczalnej zawartości. Podobne obserwacje wynikają z analizy badań kinetycznych, gdzie szybkość zmian uzależniona była od ilości miedzi. W próbce o najniższym stężeniu miedzi (5 μM) widoczny był powolny wzrost pasma w zakresie 375-475 nm, podczas gdy intensywność pasma pozostałych próbek (10 i 20 μM) rośnie znacznie szybciej. Najszybciej reakcja zachodziła w obecności 20 μM miedzi (*Rys. 33D*) a najwolniej w przypadku 5 μM miedzi (*Rys. 33B*). Niemniej jednak po 45 minutach w każdej próbce intensywność pasma była niemalże identyczna, co wiąże się z tym samym stężeniem produktu, czyli utlenionego o-aminofenolu. Z kolei w analizowanej próbce nie zaobserwowano żadnych zmian (*Rys. 33A*). W celu potwierdzenia dokładnej zawartości miedzi w próbce badanej wody oraz weryfikacji uzyskanych wyników wykonano pomiar ICP-OS, który wykazał, że zawartość miedzi w badanej próbce jest poniżej granicy wykrywalności tej metody (LOD = 0.003 mg/L).

3.8.2. Fluorescencyjne oznaczanie jonów miedzi w acetonitrylu

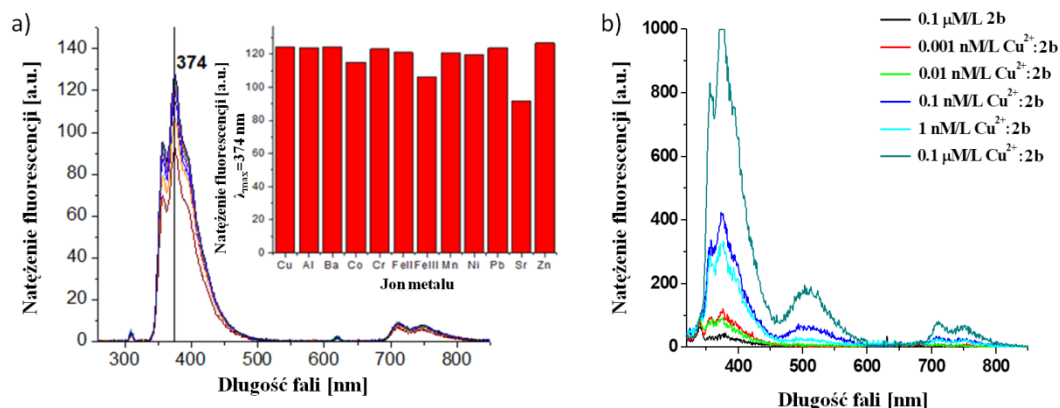
Badania w acetonitrylu wykazały znikomą emisję związku 2b (*Rys. 19c*), niemniej jednak po dodaniu jonów miedzi(II) zauważono jej silny wzrost (*Rys. 23b*). Azometyna 2b wykazuje selektywność w stosunku do jonów miedzi, co daje możliwość jej wykorzystania jako selektywnej sondy do fluorescencyjnego oznaczania. Powstający kompleks azometyny 2b z Cu^{2+} wykazuje podwójną emisję o strukturze wibracyjnej z dobrą separacją widmową (*Rys. 23b*), co obserwowano również w przypadku stosowania innych sond [149,151-153]. Wobec tego przeprowadzono badania możliwości fluorescencyjnego wykrywania i oznaczania ilości jonów Cu^{2+} w acetonitrylu przy użyciu azometyny 2b. W tym celu wykonano pomiary absorbancji i fluorescencji azometyny 2b w obecności różnych ilości miedzi. Intensywność emisji liniowo wzrasta wraz ze wzrostem ilości miedzi w próbce obejmującej zakres 0–1 μM (*Rys. 34b*). Pozwoliło to na skonstruowanie krzywej wzorcowej (*Rys. 34c*) z wysokim współczynnikiem dopasowania ($R^2 = 0,981$), dzięki czemu możliwe jest ilościowe oznaczanie jonów miedzi. Biorąc pod uwagę brak wzrostu intensywności emisji azometyny 2b (1 μM) po przekroczeniu 1 μM miedzi możemy wywnioskować, że kompleks 2b-Cu tworzy się w stosunku 1:1. Niestety pomimo usilnych prób nie udało się wydzielić

kompleksu azometyny 2b z miedzią, aby można było poznać jego strukturę. Zauważono również, że mierzona absorpcja w układzie ze zwiększoną ilością miedzi (powyżej 1 μM) wykazała ciągły wzrost intensywności pasma w zakresie 275–375 nm oraz tworzenie nowego pasma absorpcyjnego w zakresie 425–500 nm (Rys. 34a). Jest to najprawdopodobniej skutkiem tworzenia solwato-kompleksów miedzi z acetonitrylem [154-156], jednak nie wpływa to w żaden sposób na emisję kompleksu 2b-Cu.



Rys. 34 a) Absorpcja i **b)** luminescencja kompleksu Cu^{2+} (0.1- 3.8 μM) z 2b (1 μM) w acetonitrylu (λ_{ex} =310 nm) **c)** Krzywa wzorcowa fluorescencyjnego oznaczania Cu^{2+} przy użyciu 2b w acetonitrylu.

W następnym kroku sprawdzono wpływ innych jonów metali na opracowaną metodę oznaczania jonów miedzi. Jak wiadomo, jony ulegające interferencji powodują zmianę fluorescencji większą niż $\pm 5\%$. Badaniom poddano serię metali Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{+} , Zn^{2+} . Jedynie dodatek jonów Sr^{+} i Fe^{3+} spowodował nieznaczny spadek intensywności emisji w porównaniu do ślepej próby, natomiast pozostałe jony wykazały nieistotną zmianę fluorescencji (Rys. 35a). Należy wspomnieć również, że żaden z testowanych kationów nie zapobiegał ani nie przeszkadzał w tworzeniu kompleksu 2b-Cu. Na koniec przeprowadzono badania określające najmniejszą możliwą do oznaczenia ilość miedzi. Przy zastosowaniu 0,1 μM azometyny 2b można było oznaczyć nawet do 0,001 nM miedzi w próbce (Rys. 35b). Z przeprowadzonych badań możemy wywnioskować, że azometyna 2b jest dobrym wskaźnikiem do jakościowego i ilościowego oznaczania miedzi w acetonitrylu.



Rys. 35 a) Wpływ innych jonów (1 μM) na fluorescencyjne oznaczanie Cu^{2+} (1 μM) przy użyciu 2b (1 μM) w acetonitrylu; **b)** Widma fluorescencji związku 2b (0,1 μM) w roztworze acetonitrylu przy różnych stężeniach miedzi ($[\text{Cu}^{2+}] = 0,1 \mu\text{M}$ do 0,001 nM).

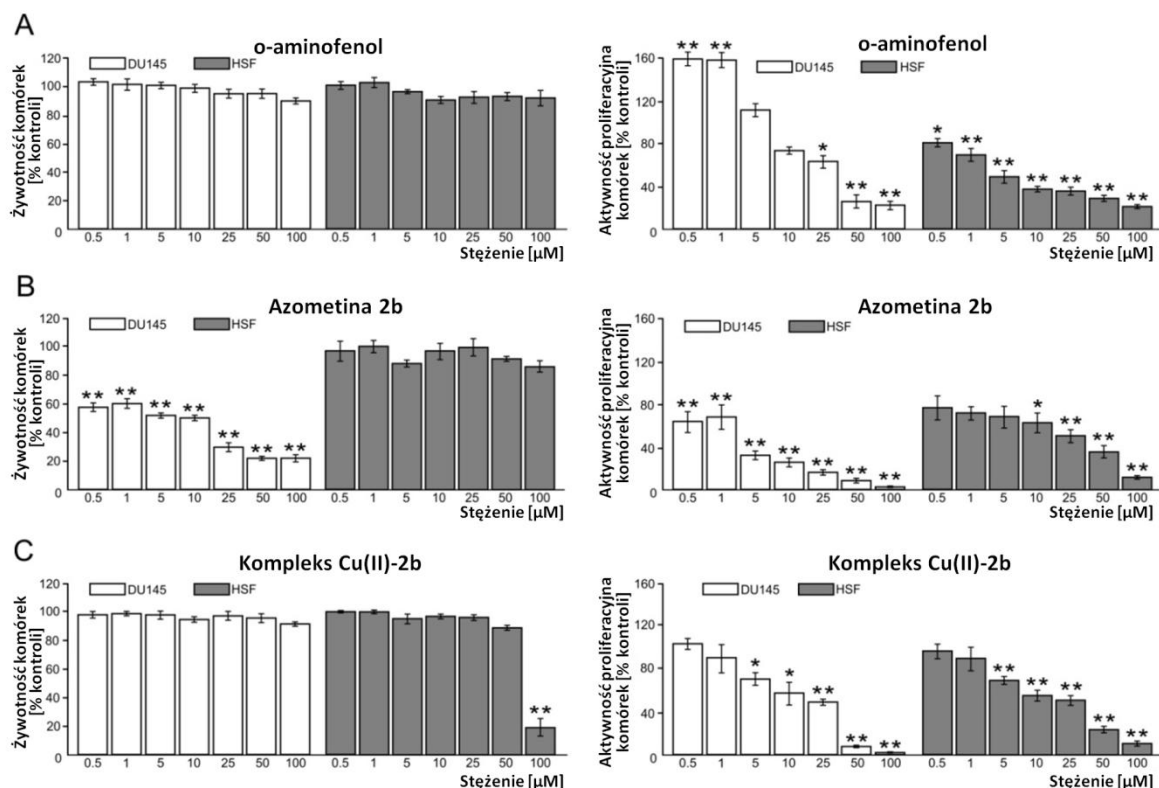
3.9. Właściwości biologiczne iminowego analogu resweratrolu (IRA)³

Ze względu na hydrolizę badanych azometin porównano cytotoksyczność o-aminofenolu, azometiny 2b (IRA) oraz kompleksu Cu(II)-2b względem normalnych fibroblastów ludzkiej skóry (HSF) oraz komórek raka prostaty (DU145). Właściwości cytotoksyczne w obecności tych czynników były analizowane za pomocą testu FDA / EtBr [157,158], a wyniki zaprezentowano na *Rysunku 36*.

Komórki HSF, które są powszechnie stosowane jako komórki modelowe do testów cytotoksyczności [159] wykazały niewrażliwość na o-aminofenol (*Rys. 36A, po lewej*) i 2b (*Rys. 36B, po lewej*) podawany w stężeniach od 0,5 μM do 100 μM . Jednak najwyższe zastosowane stężenie kompleksu Cu(II)-2b (100 μM) spowodowało znaczne zmniejszenie żywotności HSF (osłabienie do 19,4% względem kontroli, *Rys. 36C, po lewej*). Testy proliferacji, które ilustrują długoterminową aktywność cytostatyczną analizowanych związków wykazały zależny od dawki efekt cytostatyczny o-aminofenolu (*Rys. 36A, po prawej*), 2b (*Rys. 36B, po prawej*) i kompleksu Cu(II)-2b na HSF (*Rys. 36C, z prawej*). Nie zaobserwowano jednak żadnych znaczących różnic między reakcjami HSF na te związki. Te obserwacje wykazują niewielką aktywność biologiczną analizowanych związków względem

³ We współpracy z pracownikami Katedry Biologii Komórki Uniwersytetu Jagiellońskiego

komórek HSF. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, azometyna 2b ma zdolność do kompleksowania miedzi, która jest mikroelementem kluczowym dla wielu ważnych procesów wewnątrzkomórkowych [160]. Brak różnic między właściwościami cytostatycznymi 2b i jego kompleksu Cu(II)-2b pokazuje brak negatywnego wpływu tworzenia kompleksu między azometyną a miedzią na proliferację HSF. W związku z tym biodostępność miedzi nie ogranicza dobrostanu HSF.



Rys. 36 Biologiczne działanie o-aminofenolu, 2b i kompleksu Cu(II)-2b na raka i normalne komórki. Lewa kolumna: HSF (wypełnione słupki) i komórki DU145 (otwarte słupki) traktowano o-aminofenolem (A), 2b (B) lub kompleksem Cu(II)-2b (C) przez 24 godziny. Żywotność ludzkich fibroblastów skóry (HSF; wypełnione słupki) i ludzkich komórek raka prostaty DU145 (puste słupki) oszacowano za pomocą testu FDA / EtBr. Prawa kolumna: Komórki DU145 (otwarte słupki) i HSF (wypełnione słupki) traktowano o-aminofenolem (A), 2b (B) lub kompleksem Cu(II)-2b (C) przez 48 godzin, a następnie ich liczby zostały obliczone. Wszystkie wyniki pokazano jako średnią \pm SEM obliczoną z trzech niezależnych eksperymentów. Istotność statystyczną badano za pomocą jednokierunkowej ANOVA, a następnie post-hoc Dunnetta (A: proliferacja DU145, żywotność i proliferacja HSF; B: proliferacja DU145, żywotność HSF; C: proliferacja DU145, żywotność i proliferacja HSF) lub porównanie Tukeya (A: Żywotność DU145; B: Żywotność DU145, proliferacja HSF; C: Żywotność DU145) przy * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Aby zweryfikować te dane i oszacować potencjalne właściwości przeciwnowotworowe analizowanych związków skupiliśmy się na wpływie tych związków na żywotność i proliferację komórek DU145 - ludzkiego raka prostaty. Ponownie nie

zaobserwowano znaczącego wpływu o-aminofenolu (*Rys. 36A, po lewej*) i kompleksu Cu(II)-2b na żywotność komórek DU145 (*Rys. 36C, po lewej*). Z drugiej strony 2b znacznie zmniejszył liczbę żywych komórek DU145, przy podaniu najniższego stężenia (0,5 μ M) osiągnął on jedynie 57,3% kontroli i spadał wraz ze wzrostem stężenia związku (*Rys. 36B, po lewej*). Jednocześnie związek 2b wywierał wyraźne działanie cytostatyczne na komórki DU145 silniejsze niż wobec komórek HSF (*Rys. 36B, z prawej*). Ilustruje to porównanie efektów cytostatycznych 2b - 5 μ M na komórki HSF i DU145 (odpowiednio 69,6% i 33,2% dla komórek HSF i DU145). Ponadto działanie cytostatyczne 2b wobec DU145 jest znacznie silniejsze niż w przypadku o-aminofenolu (*Rys. 36A, z prawej*) jak i kompleksu Cu(II)-2b (*Rys. 36C, z prawej*). Co ciekawe o-aminofenol wzmacniał proliferację komórek DU145 przy podawaniu w małych dawkach (0,5 μ M - 1 μ M; *Rys. 36A, z prawej*). Dane te sugerują, że komórki rakowe mogą być bardziej wrażliwe na związek 2b niż ich normalne odpowiedniki, co otwiera perspektywy terapeutycznego zastosowania związku 2b.

Brak efektu cytotoksycznego zarówno o-aminofenolu jak i kompleksu Cu(II)-2b może wskazywać na istotne znaczenie niezwiązanego wiązania iminowego. Uzyskane wyniki mogą sugerować aktywność azometyny 2b przez interakcję IRA z innymi celami molekularnymi, np. Keap1 [41]. Badania te pokazują, że pomimo częściowej hydrolizy imin w środowisku wodnym efekt cytotoksyczny 2b jest związany z obecnością niehydrolizowanego związku. Zatem obecność wiązań iminowych odgrywa kluczową rolę w ich właściwościach biologicznych.

3.10. Potencjalne wykorzystanie badanych imin jako sond miedzi w układach biologicznych

Ważnym tematem badań omawianym w wielu pracach jest rola miedzi w rozwoju jak również w walce z nowotworami. Większość nowotworów (np.: chłoniaki, mięsak komórek siateczkowych, białaczka, rak szyjki macicy, piersi, żołądka, wątroby, płuc i prostaty) wykazuje podwyższoną wewnątrzkomórkową miedź jak również wpływa na zmianę jej dystrybucji w organizmie [161,162]. Z tych względów jony miedzi znajdują zastosowanie w leczeniu [161] oraz diagnostyce nowotworów (radiofarmaceutyki - sole

i kompleksy miedzi) [162]. Stosowane są dwie główne metody terapeutyczne: I) obniżająca stężenia biodostępnej miedzi przez jej chelatację w komórkach nowotworowych; II) wykorzystująca jonofory w celu dostarczenia miedzi i zwiększenia jej poziomu w komórkach [161]. Zatem wyjaśnienie efektu cytotoksycznego azometyny 2b związanego z ograniczeniem biodostępności miedzi dla komórek nowotworowych przez jej kompleksowanie wydaje się interesującym przedmiotem dalszych badań. W literaturze opisano wpływ akumulacji miedzi [163] jak również jej chelatacji na rozwój komórek raka prostaty [164]. Należy jednak zauważyć, że wpływ zaburzenia gospodarki miedzią na zahamowanie rozwoju bądź niszczenie komórek nowotworowych nie jest w pełni wyjaśniony [161]. Ponadto warto zauważyć, że badana azometyna 2b jest iminową pochodną Resweratrolu (IRA), należąca do grupy związków o udowodnionych właściwościach przeciwnowotworowych, co zostało opisane w rozdziale 2.3. Badania przeprowadzone na komórkach raka prostaty wykazują efekt hamowania ich wzrostu przez działanie IRA [165,166]. Wykorzystanie pochodnych Resweratrolu względem linii DU145 spowodowało zatrzymanie cyklu komórkowego poprzez hamowanie enzymu reduktazy rybonukleotydowej [167]. Być może związek 2b mógłby być stosowany w strategiach polekowych.

Miedź jest bardzo ważnym dla życia mikroelementem, jednak w większych ilościach może działać toksycznie (Rozdział 2.4.). Wobec tego utrzymanie prawidłowej homeostazy miedzi jest bardzo ważne dla naszego zdrowia. Szczególnie istotne jest to dla osób z zaburzeniami takimi jak choroba Menkesa, Wilsona, choroby neurodegeneracyjne (Alzheimer, Parkinson, Huntington) a nawet otyłość i cukrzyca [168]. Kontrolę stężenia miedzi w organizmie możemy wykonać badając najczęściej osocze lub surowicę krwi, ale również mocz czy nawet włosy [54]. Wiele z sond fluorescencyjnych opisano w celu badania fizjologii, diagnozowania chorób i monitorowania nieprawidłowej regulacji miedzi. Sondy wykazujące działanie w zakresie widzialnych długości fal użyteczne są w mikroskopii monowarstw komórkowych. Jest to spowodowane słabą penetracją światła widzialnego w głąb komórek/tkanek [168]. Ciekawym sposobem oznaczania miedzi w próbkach biologicznych jest wykorzystanie kolorymetrii [169-171]. Z kolei sond wykorzystujących

jedynie pomiary spektrofotometryczne jest stosunkowo niewiele [172]. Badania miedzi są więc ważnym testem biologicznym [54]. Jak ważne znaczenie odgrywają metale w biologii człowieka i medycynie możemy sobie zdać sprawę w kontekście pandemii 2019-nCoV. Okazuje się, że poziom cynku w organizmie w istotny sposób warunkuje podatność na COVID 2019, a suplementacja cynku może wykazywać właściwości przeciwwirusowe przeciwko 2019-nCoV [173]. Tak więc szybkie i tanie metody detekcji metali, takie jak opisana powyżej metoda detekcji miedzi może znaleźć zastosowanie do opracowania szybkich testów diagnostycznych, które mogłyby być powszechnie stosowane do diagnostyki szeregu schorzeń. Wymaga to dodatkowych i szerzej zakrojonych badań. Jednym z atrakcyjnych kierunków jest próba zastosowania opracowanego testu w szybkiej diagnostyce glikemii.

4. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

4.1. Odczynniki

Wszystkie odczynniki chemiczne i materiały wyjściowe były komercyjnie dostępne i stosowane bez wcześniejszego oczyszczania. Rozpuszczalniki do spektroskopii takie jak: metanol (MeOH), acetonitryl (ACN), dimetylosulfotlenek (DMSO) i stężony 1M roztwór soli buforowany fosforanem (PBS) o pH 7,4 (+/- 0,1) zostały użyte do zbadania właściwości absorpcyjnych i emisyjnych. Do badań kompleksujących wykorzystano następujące sole: $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (POCH), $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (POCH), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Chempur), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (POCH), $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (POCH), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), AlCl_3 (POCH), ZnCl_2 (Sigma-Aldrich), PbCl_2 (POCH), $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Chempur), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich).

4.2. Urządzenia

Otrzymane związki scharakteryzowano magnetycznym rezonansem jądrowym (^1H i ^{13}C NMR) na spektrometrze Bruker AC400 lub Acend 500 oraz analizą elementarną z użyciem aparatu Vario EL III (Elementar, Niemcy). Różnicową kalorymetrię skaningową (DSC) przeprowadzono stosując aparat Du Pont 1090B z szybkością ogrzewania/chłodzenia $20\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ w atmosferze azotu i stosując aluminiowe pojemniki na próbki, w zakresie temperatur $0 - 250\text{ }^\circ\text{C}$. Analizę termograwimetryczną (TGA) wykonano przy pomocy systemu Mettler Toledo TGA STARe z szybkością ogrzewania $10\text{ }^\circ\text{C/min}$ w stałym strumieniu azotu, w zakresie temperatur $0 - 800\text{ }^\circ\text{C}$. Widma absorpcji UV-Vis zmierzono używając spektrometru Thermo Scientific Evolution 200 series lub Perkin Elmer Lambda Bio 40. Widma fotoluminescencji (PL) mierzono za pomocą spektrometru Varian Cary Eclipse Spectrometer.

4.3. Synteza aldehydów z układem etynylowym lub diynowym

4.3.1. Synteza 4-(2-fenyloetynylo)benzaldehydu

Do kolby o pojemności 250 cm³ odważono 16 g (86,5 mmol) p-bromobenzaldehydu, 120 mg miedzi, 50 mg chlorku palladu(II) oraz 200 mg trifenylofosfiny, do całości wprowadzono 150 cm³ osuszonej trietyloaminy. Kolbę umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Po czym zaopatrzono w chłodnicę zwrotną i zamontowano na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C, a następnie do kolby dodawano porcjami 10 cm³ (9,3 g; 91,1 mmol) fenyloacetyleny. Reakcję prowadzono przez pięć godzin, po czym mieszaninę zatężono na wyparce rotacyjnej, a następnie przesączono przez warstwę żelu krzemionkowego stosując jako eluent octan etylu. Połączone warstwy organiczne odparowano a otrzymany produkt oczyszczano przez trzykrotną ekstrakcję dichlorometanem (3 x 75 cm³). Zebrane frakcje organiczne złączyło razem i osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwę organiczną zatężono na wyparce. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ¹H NMR.

Otrzymano 17,35 g produktu w postaci jasno pomarańczowego proszku. Wydajność reakcji wyniosła 97%. Strukturę związku potwierdzono analizą ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 10.04 (s, 1H), 7.91 – 7.86 (m, 2H), 7.72 – 7.67 (m, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 3H) [1].

4.3.2. Próby otrzymania 4-(4-fenylobuta-1,3-diyn-1-yl)benzaldehydu

4.3.2.1. Synteza 1-bromo-2-fenyloacetyleny

Do kolby o pojemności 500 cm³ odmierzono 250 cm³ acetonu, 5,5 cm³ (5,12 g, 50,1 mmol) fenyloacetyleny na koniec odważono 850 mg azotanu srebra. Kolbę umieszczono na mieszadle magnetycznym, następnie podczas mieszania dodawano małymi porcjami 9,8 g (55,1 mmol) N-bromosukcynoimidu (NBS). Po około czterech godzinach od dodania ostatniej porcji NBS-u dolano do otrzymanej mieszaniny 200 cm³ heksanu i przesączono grawitacyjnie. Przesącz zatężono, po czym ekstrahowano eterem dietylowym (3 x 20 cm³).

Fazę organiczną osuszono bezwodnym siarczanem(VI) magnezu, przesączono i odparowano rozpuszczalnik. Po czym produkt przesączono przez warstwę żelu krzemionkowego stosując heksan jako eluent, a następnie zatężono na wyparce. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ^1H NMR.

Otrzymano 5,82 g produktu w postaci pomarańczowej oleistej cieczy. Wydajność reakcji wyniosła 64%. Strukturę związku potwierdzono analizą ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.50 – 7.45 (m, 2H), 7.38 – 7.31 (m, 3H) [71].

4.3.2.2. Synteza p-acetylenobenzaldehydu

Etap I

Do probówki odważono 1 g (5,4 mmol) p-bromobenzaldehydu, 20 mg miedzi, 5 mg chlorku palladu(II), 17 mg trifenylofosfiny całość uzupełniono 10 cm^3 osuszonej trietyloaminy. Probówkę zamknięto septą, po czym umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Probówkę umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C. Do mieszaniny reakcyjnej dodano 1 cm^3 (0,709 g, 7,2 mmol) trimetylosilanoacetyleny (TMSA) po czym reakcję prowadzono przez trzy godziny. Następnie mieszaninę przesączono grawitacyjnie przemywając octanem etylu, przesącz zatężono na wyparce rotacyjnej. Otrzymany produkt oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej (eluent octan etylu: heksan w stosunku 1:9). Na koniec produkt zatężono na wyparce a po pewnym czasie poddano analizie ^1H NMR.

Otrzymano 0,74 g produkt w postaci białego lekko żółtawego proszku. Wydajność reakcji wynosi 68%. Strukturę związku potwierdzono analizą ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.02 (s, 1H), 7.84 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 0.31 – 0.26 (m, 9H) [67].

Etap II

Do kolby odmierzone 15 cm^3 metanolu, do którego odważono 2,2 g (10,9 mmol) wcześniej otrzymanego 4-[(trimetylosililo)etynylo]benzaldehydu oraz 0,17 g K_2CO_3 . Kolbę zamknięto szczelnie szklanym korkiem i mieszano przez trzy godziny w temperaturze pokojowej. Po czym odparowano rozpuszczalnik a produkt oczyszczano przez ekstrakcję dichlorometanem (3 x 20 cm^3). Frakcje organiczne złączono razem i osuszono bezwodnym

siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwę organiczną zatężono. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ^1H NMR.

Otrzymano 1,37 g produktu w postaci ciała stałego o białej barwie z wydajnością 97%. Strukturę związku potwierdzono ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.04 (s, 1H), 7.89 – 7.83 (m, 2H), 7.69 – 7.63 (m, 2H), 3.32 (s, 1H) [72].

4.3.2.3. Synteza 4-(4-fenylobuta-1,3-diyn-1-yl)benzaldehydu

I próba

Do trzech probówek odważono po 0,13 g (1 mmol) p-acetylenobenzaldehydu oraz 0,27 g (1,5 mmol) 1-bromo-2-fenyloacetyleny, do jednej z probówek dodano 5 mg jodku miedzi(I) a do pozostałych dwóch po 5 mg 5% Pd/Cu. Na koniec wszystkie trzy probówki uzupełniono 5 cm^3 osuszonej trietyloaminy. Probówki zamknięto septami, po czym umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Zamknięcie probówek przebito długimi igłami za pomocą, których wprowadzono powietrze atmosferyczne pompowane przez pompkę akwariową. Probówki mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 5 godzin. Probówkę z 5% Pd/Cu mieszano w temperaturze pokojowej, natomiast pozostałe dwie probówki w łaźni olejowej nagrzanej do temperatury 80°C. Następnie mieszaniny przesączono grawitacyjnie przemywając octanem etylu, po czym zatężono na wyparce rotacyjnej a po pewnym czasie poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 3, poz. 1-3*).

II próba

Do dwóch probówek odważono po 0,13 g (1 mmol) p-acetylenobenzaldehydu, 0,27 g (1,5 mmol) 1-bromo-2-fenyloacetyleny oraz 5 mg jodku miedzi(I). Na koniec probówki uzupełniono 5 cm^3 osuszonej trietyloaminy. Probówki zamknięto septami, po czym umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Probówki mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 4 godziny. Jedną probówkę mieszano w temperaturze pokojowej a drugą w łaźni olejowej nagrzanej do temperatury 80°C. Następnie mieszaniny przesączono grawitacyjnie przemywając octanem etylu, po czym zatężono na wyparce rotacyjnej. Produkty oczyszczano przez ekstrakcję dichlorometanem (3 x 20 cm^3). Frakcje organiczne osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący

a warstwy organiczne zatężono. Po pewnym czasie produkty poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 3, poz. 4-5*).

III próba

Do czterech probówek odważono po 0,13 g (1 mmol) p-acetylenobenzaldehydu oraz 0,27 g (1,5 mmol) 1-bromo-2-fenyloacetyleny. Do pierwszej z nich dodano 5 mg jodku miedzi(I), do drugiej 5 mg jodku miedzi(I) oraz 3 mg chlorku palladu(II) natomiast do trzeciej 36 mg 5% Pd/Cu. Na koniec wszystkie cztery probówki uzupełniono 5 cm³ osuszonej trietyloaminy. Probówki zamknięto septami, po czym umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Probówki umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C i mieszano przez 3 godziny. Następnie mieszaniny przesączono grawitacyjnie przemywając octanem etylu, po czym zatężono na wyparce rotacyjnej. Produkty oczyszczano przez ekstrakcję dichlorometanem (3 x 20 cm³). Frakcje organiczne osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwy organiczne zatężono. Po pewnym czasie produkty poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 3, poz. 6-9*).

IV próba

Do dwóch probówek odważono po 0,13 g (1 mmol) p-acetylenobenzaldehydu oraz 0,27 g (1,5 mmol) 1-bromo-2-fenyloacetyleny, dodatkowo do jednej z probówek dodano 5 mg jodku miedzi(I) oraz 3 mg chlorku palladu(II) natomiast do drugiej 36 mg 5% Pd/Cu. Na koniec probówki uzupełniono 5 cm³ osuszonej trietyloaminy. Probówki zamknięto septami, po czym umieszczono na 5 minut w myjce ultradźwiękowej. Probówki umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C i mieszano przez 13 godzin. Następnie mieszaniny przesączono grawitacyjnie przemywając octanem etylu, po czym zatężono na wyparce rotacyjnej. Produkty oczyszczano przez ekstrakcję dichlorometanem (3 x 20 cm³). Frakcje organiczne osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwy organiczne zatężono. Po pewnym czasie produkty poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 3, poz. 10-11*).

4.4. Synteza azometin

4.4.1. Przegląd metod otrzymywania azometin

I metoda

Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Na koniec probówkę uzupełniono 2,5 cm³ etanolu i zamknięto septą po czym umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C i mieszano przez 3 godziny. Następnie otrzymany roztwór odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Mieszaninę poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 1*) [78].

II metoda

Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Na koniec probówkę uzupełniono 5 cm³ wody i zamknięto septą, po czym mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 3 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie mieszaninę poreakcyjną przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem. Produkt pozostały na sączku pozostawiono do wyschnięcia w temperaturze pokojowej i po pewnym czasie produkt poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 2*) [79].

III metoda

W osobnych zlewkach przygotowano dwa roztwory: do pierwszej zlewki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz dodano 1 cm³ benzenu a do drugiej zlewki odważono 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu i dodano 2 cm³ benzenu. Roztwór aldehydu przelano do probówki natomiast roztwór aminy umieszczono w strzykawce. Probówkę zamknięto septą i umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C, po czym mieszano przez 3 godziny stopniowo wstrzykując roztwór aminy. Następnie otrzymany roztwór odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 3*) [80].

IV metoda

Do moździerza odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Następnie ręcznie przy użyciu pistla ucierano razem obie substancje przez godzinę. Powstały produkt poddano po pewnym czasie analizie ^1H NMR (*Tabela 5, poz. 4*) [81].

V metoda

Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu oraz 15 mg sześciowodnego azotanu (V) niklu (II). Na koniec probówkę uzupełniono 5 cm³ metanolu i zamknięto septą, po czym mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 2,5 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie do mieszaniny poreakcyjnej dodano niewielką ilość wody destylowanej (5 cm³), po czym poddano ekstrakcji dichlorometanem (3 x 20 cm³). Zebrane frakcje organiczne złączono razem i osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwę organiczną zatężono na wyparce. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 5, poz. 5*) [82].

VI metoda

Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Na koniec probówkę uzupełniono 4 cm³ metanolu wraz z 0,05 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Probówkę zamknięto septą i umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 70°C, po czym mieszano przez 3 godziny. Następnie do mieszaniny poreakcyjnej dodano niewielką ilość wody destylowanej (5 cm³), po czym poddano ekstrakcji dichlorometanem (3 x 20 cm³). Zebrane frakcje organiczne złączono razem i osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwę organiczną zatężono na wyparce. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 5, poz. 6*) [83].

VII metoda

Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Na koniec probówkę uzupełniono 4 cm³ etanolu wraz

z 0,1 cm³ lodowatego kwasu octowego. Probówkę zamknięto septą i umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 80°C, po czym mieszano przez 3 godziny. Następnie do mieszaniny poreakcyjnej dodano niewielką ilość wody destylowanej (5 cm³), po czym poddano ekstrakcji dichlorometanem (3 x 20 cm³). Zebrane frakcje organiczne złączono razem i osuszono bezwodnym siarczanem magnezu. Odsączono środek suszący a warstwę organiczną zatężono na wyparce. Po pewnym czasie produkt poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 7*) [84].

VIII metoda

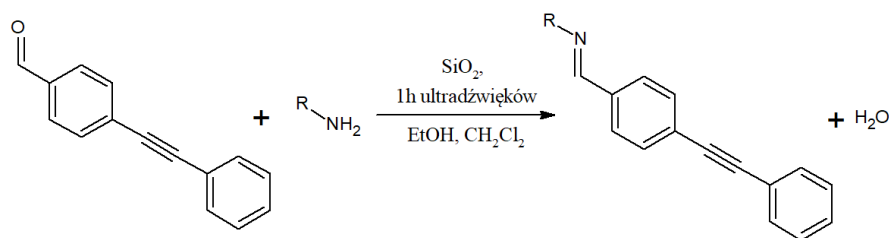
Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu oraz 0,3 g bezwodnego siarczanu (VI) magnezu. Na koniec probówkę uzupełniono 4 cm³ dichlorometanu i zamknięto septą, po czym mieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 5 godzin w temperaturze pokojowej. Mieszaninę poreakcyjną przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymany roztwór odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Powstały produkt poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (6:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem a po pewnym czasie poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 8*) [80].

IX metoda

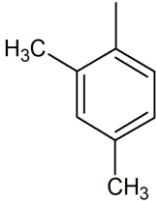
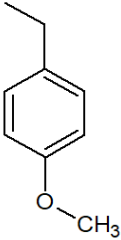
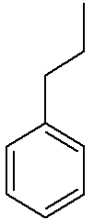
Do probówki odważono 0,109 g (1 mmol) 3-aminofenolu, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu oraz 0,25 g krzemionki. Na koniec probówkę uzupełniono 2,5 cm³ dichlorometanu oraz 2,5 cm³ etanolu absolutnego. Probówkę zamknięto septą a następnie przez godzinę stymulowano reakcję przy pomocy myjki ultradźwiękowej, od czasu do czasu ręcznie wstrząsając. Mieszaninę poreakcyjną przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie przesącz odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Powstały produkt poddano po pewnym czasie analizie ¹H NMR (*Tabela 5, poz. 9*) [85].

4.4.2. Otrzymywanie azometin z układem fenyloetynylofenylowym

Do probówki odważono 2 mmol aminy pierwszorzędowej, 0,412 g (2 mmol) 4-(2-fenyloetynylo)benzaldehydu oraz 0,5 g krzemionki. Na koniec probówkę uzupełniono 5 cm³ dichlorometanu oraz 5 cm³ etanolu absolutnego. Probówkę zamknięto septą a następnie przez godzinę stymulowano reakcję przy pomocy myjki ultradźwiękowej, od czasu do czasu ręcznie wstrząsając. Mieszaninę poreakcyjną przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie przesącz odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Powstały produkt poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem a po pewnym czasie poddano analizie ¹H NMR, ¹³C NMR i analizie elementarnej. Tą metodą otrzymano pięć związków w postaci ciał stałych.



R		Analiza otrzymanych azometin
1.		<p>Wydajność syntezy: 31 %</p> <p>¹H NMR: (500 MHz, DMSO) δ 8.67 (s, 1H), 8 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.71 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.61 (m, 2H), 7.47 – 7.40 (m, 5H), 7.32 – 7.24 (m, 3H)</p> <p>¹³C NMR: (126 MHz, DMSO) δ 160.32, 151.67, 136.46, 132.27, 131.97, 129.72, 129.62, 129.36, 129.32, 126.74, 125.50, 122.42, 121.55, 92.09, 89.56.</p> <p>analiza elementarna: teoretyczne (%): C 89.65, N 4.98, H 5.37 otrzymane (%): C 89.88, N 4.98, H 5.35</p> <p>Wzór Sum./ M [g/mol]: C₂₁H₁₅N / 281.25</p> <p>T_{top} (°C): 148</p> <p>Oznaczenie: 2a (MK-3)</p>
2.		<p>Wydajność syntezy: 90 %</p> <p>¹H NMR: (500 MHz, DMSO) δ 9.07 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.09 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.49 – 7.43 (m, 3H), 7.25 (m, 1H), 7.13 – 7.08 (m, 1H), 6.91 (m, 1H), 6.88 – 6.82 (m, 1H).</p> <p>¹³C NMR: (101 MHz, DMSO) 158.65, 151.87, 138.04, 136.87, 132.10, 131.95, 129.54, 129.30, 128.20, 125.22, 122.50, 119.96, 119.55, 116.59, 91.98, 89.72.</p> <p>analiza elementarna: teoretyczne (%): C 84.82, N 4.71, H 5.08 otrzymane (%): C 84.53, N 4.31, H 5.48</p> <p>Wzór Sum./ M [g/mol]: C₂₅H₁₅NO/297,35</p> <p>T_{top} (°C): 152</p> <p>Oznaczenie: 2b (MK-5)</p>

<p>3.</p> 	<p>Wydajność syntezy</p> <p>¹H NMR:</p> <p>¹³C NMR:</p> <p>analiza elementarna:</p> <p>Wzór Sum./ M [g/mol]</p> <p>T_{top} (°C)</p> <p>Oznaczenie</p>	<p>32 %</p> <p>(500 MHz, DMSO) δ 8.55 (s, 1H), 7.99 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.70 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.60 (m, 2H), 7.48 – 7.43 (m, 3H), 7.08 (s, 1H), 7.03 (m, 2H), 2.29 (d, J = 7.2 Hz, 6H).</p> <p>(126 MHz, DMSO) δ 158.46, 147.89, 136.81, 135.73, 132.25, 131.95, 131.36, 129.57, 129.30, 129.17, 127.73, 125.22, 122.47, 117.88, 91.94, 89.64, 21.02, 17.98.</p> <p>teoretyczne (%): C 89.28, N 4.53, H 6.18 otrzymane (%): C 88.44, N 4.23, H 6.46</p> <p>C₂₃H₁₉N/309,40</p> <p>93</p> <p>2c (MK-6)</p>
<p>4.</p> 	<p>Wydajność syntezy</p> <p>¹H NMR:</p> <p>¹³C NMR:</p> <p>analiza elementarna:</p> <p>Wzór Sum./ M [g/mol]</p> <p>T_{top} (°C)</p> <p>Oznaczenie</p>	<p>34 %</p> <p>(500 MHz, DMSO) δ 8.50 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.63 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.47 – 7.42 (m, 3H), 7.26 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 4.72 (s, 2H), 3.74 (s, 3H).</p> <p>(126 MHz, DMSO) δ 161.07, 158.72, 136.57, 132.17, 131.92, 131.83, 129.65, 129.52, 129.29, 128.64, 124.79, 122.49, 114.27, 91.57, 89.54, 63.97, 55.52.</p> <p>teoretyczne (%): C 84.89, N 4.30, H 5.88 otrzymane (%): C 84.43, N 4.14, H 5.93</p> <p>C₂₃H₁₉NO/325,40</p> <p>121</p> <p>2d (MK-8)</p>
<p>5.</p> 	<p>Wydajność syntezy</p> <p>¹H NMR:</p> <p>¹³C NMR:</p> <p>analiza elementarna:</p> <p>Wzór Sum./ M [g/mol]</p> <p>T_{top} (°C)</p> <p>Oznaczenie</p>	<p>54 %</p> <p>(500 MHz, DMSO) δ 8.30 (s, 1H), 7.76 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.44 (m, 3H), 7.31 – 7.24 (m, 4H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 3.83 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.94 (t, J = 7.3 Hz, 2H)</p> <p>(126 MHz, DMSO) 160.89, 140.31, 136.53, 132.15, 131.92, 129.51, 129.32, 129.28, 128.69, 128.50, 126.45, 124.70, 122.50, 91.51, 89.54, 62.46, 37.31.</p> <p>teoretyczne (%): C 89.28, N 4.53, H 6.19 otrzymane (%): C 88.88, N 4.31, H 6.14</p> <p>C₂₃H₁₉N/309,40</p> <p>90</p> <p>2e (MK-4)</p>

4.4.3. Analiza aktywności katalizatorów heterogenicznych w układzie modelowym

4.4.3.1. Poszukiwania efektywnego katalizatora

Do dwudziestu probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu. Dodatkowo do dziewiętnastu probówek dodano po 25 mg określonego katalizatora. Na koniec probówki uzupełniono 2,5 cm³ dichlorometanu oraz 2,5 cm³ etanolu absolutnego. Probówki zamknięto septami a następnie przez godzinę mieszano na mieszadle magnetycznym zaopatrzonego w łożnię olejową nagrzaną do temperatury 60°C. Mieszaniny poreakcyjne przesączono

grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymane roztwory odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Po pewnym czasie produkty poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 6*).

4.4.3.2. Badanie aktywności 5% Pd/Cu

I próba

Do sześciu probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu. Na koniec probówki uzupełniono określonymi rozpuszczalnikami: 1) 5 cm³ etanolu, 2) 5 cm³ octanu etylu, 3) 5 cm³ dichlorometanu, 4) 5 cm³ metanolu, 5) 2,5 cm³ dichlorometanu i 2,5 cm³ etanolu, 6) 2,5 cm³ octanu etylu i 2,5 cm³ etanolu. Probówki zamknięto septami, a następnie przez godzinę mieszano na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łożnię olejową nagrzaną do temperatury 60°C. Mieszaniny poreakcyjne odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Produkty poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a po pewnym czasie poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 7, poz. 1-6*).

II próba

Do czterech probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu oraz 25 mg 5% Pd/Cu. Na koniec probówki uzupełniono 5 cm³ etanolu absolutnego i zamknięto septami, po czym mieszano przez godzinę w czterech różnych temperaturach (50°C, 60°C, 70°C, 80°C) przy użyciu mieszadła magnetycznego z łożnią olejową nagrzaną do odpowiedniej temperatury. Mieszaniny poreakcyjne przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymane roztwory odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Produkty poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a po pewnym czasie poddano analizie ^1H NMR (*Tabela 7, poz. 7-10*).

III próba

Do trzech probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu oraz 25 mg 5% Pd/Cu. Na koniec probówki uzupełniono 2,5 cm³ dichlorometanu oraz 2,5 cm³ etanolu absolutnego. Probówki zamknięto septami, a następnie umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 60°C, po czym mieszano przez: 1) godzinę, 2) trzy godziny, 3) osiem godzin. Mieszaniny poreakcyjne przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymane roztwory odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Produkty poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a po pewnym czasie poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 7, poz. 11-13*).

IV próba

Do czterech probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny, 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu oraz 15 mg 5% Pd/Cu. Na koniec probówki uzupełniono 2,5 cm³ dichlorometanu oraz 2,5 cm³ etanolu absolutnego. Probówki zamknięto septami, a następnie umieszczono na mieszadle magnetycznym zaopatrzonym w łaźnię olejową nagrzaną do temperatury 60°C, po czym mieszano przez: 1) 4 godziny, 2) 16 godzin, 3) 24 godziny, 4) 40 godzin. Mieszaniny poreakcyjne przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymane roztwory odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Produkty poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a po pewnym czasie poddano analizie ¹H NMR (*Tabela 7, poz. 14-17*).

V próba

Do dwóch probówek odważono po 0,094 g (1 mmol) 2-aminopirydyny oraz 0,206 g (1 mmol) 4-(2-feniloetynylo)benzaldehydu. Do pierwszej probówki dodano dodatkowo 15 mg 5% Pd/Cu a do drugiej 0,25 g krzemionki. Na koniec probówki uzupełniono 2,5 cm³ dichlorometanu oraz 2,5 cm³ etanolu absolutnego. Probówki zamknięto septami,

a następnie przez godzinę stymulowano reakcję przy pomocy myjki ultradźwiękowej, od czasu do czasu ręcznie wstrząsając. Mieszaniny poreakcyjne przesączono grawitacyjnie przemywając dichlorometanem, następnie otrzymane roztwory odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem w celu usunięcia rozpuszczalnika. Produkty poddano wymrażaniu w układzie heksan:octan etylu (4:1). Powstałe po wymrożeniu kryształy odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem, a po pewnym czasie poddano analizie ^1H NMR (Tabela 7, poz. 18-19).

4.5. Badania fizykochemiczne w roztworze

4.5.1. Badania właściwości optycznych azometin

Do badań fizykochemicznych wykorzystywano 1 mM roztwory związków, otrzymane przez rozpuszczenie odpowiednich naważek w DMSO. Następnie roztwory do badań przygotowano przez rozcieńczenie $0,1\text{ cm}^3$ otrzymanych wcześniej roztworów badanych związków do objętości 10 cm^3 przy użyciu różnych rozpuszczalników, takich jak: metanol, acetonitryl, dimetylosulfotlenek lub acetonitryl/PBS (80%, v/v; 0,1 M PBS, pH = 7,4) uzyskując stężenie $10\text{ }\mu\text{M}$. Dla tak otrzymanych roztworów wykonano pomiar absorbancji oraz fotoluminescencji, a otrzymane wyniki zaprezentowano oraz opisano w Rozdziale 3.7.

Badanie właściwości agregacyjnych:

I metoda

Do wykonania badań właściwości agregacyjnych sporządzono w kolbach miarowych (10 cm^3) 10 układów ACN/PBS o różnej zawartości PBS (0,1 M) w układzie wynoszącej odpowiednio: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 % objętościowych. Do każdego układu wprowadzono po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu związku 2b (1 mM w DMSO), po czym wymieszano. Pomiar absorbancji oraz fluorescencji wykonano po dwóch godzinach od momentu sporządzenia roztworu. Wyniki przedstawiono i omówiono w Rozdziale 3.7.

II metoda

W celu rozszerzenia badań właściwości agregacyjnych przygotowano 10 kolb miarowych (10 cm^3), do których dodano kolejno 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; $0,1\text{ cm}^3$ roztworu 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu (1 mM w DMSO), po czym kolbki uzupełniono układem ACN/PBS o zawartości PBS (0,1 M) 50 % objętościowych i wymieszano. Następnie przygotowano drugą serię układów w podobny sposób jak poprzednią używając jednakże układu ACN/PBS o zawartości PBS (0,1 M) 80 % objętościowych. Pomiar fluorescencji wykonano po dwóch godzinach od momentu sporządzenia roztworów. Wyniki przedstawiono i omówiono w Rozdziale 3.7.

4.5.2. Badanie właściwości kompleksujących pochodnej IRA

Do badań właściwości kompleksujących pochodnej IRA wykorzystano 1 mM roztwory soli, takich jak Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} i Zn^{2+} , które otrzymano przez rozpuszczenie odpowiednich naważek soli w wodzie destylowanej (w kolbie miarowej 10 cm^3). Następnie do kolb miarowych (10 cm^3) dodano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu azometyny 2b (1 mM w DMSO) i $0,1\text{ cm}^3$ roztworu określonego jonu metalu (1 mM w H_2O). Kolby uzupełniono roztworem acetonitryl/PBS (80% PBS, v/v) do objętości 10 cm^3 i wymieszano. Wykonano pomiary absorbancji w temperaturze pokojowej dwie godziny po dodaniu jonów. Przygotowano również drugą serię układów poprzez wprowadzenie do kolb miarowych (10 cm^3) po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu azometyny 2b (1 mM w ACN) i $0,4\text{ cm}^3$ roztworu określonego jonu metalu (1 mM w ACN). Kolby uzupełniono acetonitrylem do objętości 10 cm^3 i wymieszano. Po czym zmierzono ich fluorescencję w temperaturze pokojowej dwie godziny po dodaniu jonów. Aby zapewnić odtwarzalność i stabilność danych eksperymentalnych wszystkie eksperymenty przeprowadzono co najmniej dwa razy. Wyniki przedstawiono i omówiono w Rozdziale 3.8.

4.5.2.1. Wykrywanie miedzi w środowisku wodnym

Badania kinetyczne potwierdzające mechanizm oznaczania:

Na wstępie przygotowano 1 mM roztwór o-aminofenolu, przez rozpuszczenie odpowiedniej naważki w DMSO. Do dwóch kolb miarowych (10 cm^3) dano po $0,3\text{ cm}^3$ roztworu jonów miedzi (1 mM w H_2O), po czym kolby uzupełniono roztworem ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v). Następnie do pierwszej kolby dodano $0,1\text{ cm}^3$ roztworu o-aminofenolu (1 mM w DMSO) a do drugiej $0,1\text{ cm}^3$ roztworu 2b (1 mM w DMSO), po czym zawartość kolb wymieszano. Świeżo przygotowane roztwory niezwłocznie przelano do kuwet UV-VIS z mieszadełkiem i automatycznie zbierano widma z próbek co 1 minutę w sposób ciągły przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Wyniki zaprezentowano na *Rysunku 26*.

Badania wizualne wpływu środowiska:

Do pięciu kolb miarowych o pojemności 10 cm^3 dano po $0,1\text{ cm}^3$ wcześniej przygotowanego 1 mM roztworu Cu^{2+} w H_2O . Następnie kolbki uzupełniono odpowiednim środowiskiem, tj: a) ACN/ H_2O (80% H_2O , v/v); b) woda destylowana; c) ACN/ H_2O (80% H_2O , v/v); d) 0,1 M PBS; e) ACN/PBS (80% 0,1 M PBS, v/v). Zawartość kolb miarowych przelano do odpowiednich fiolek, w których był umieszczony dipol magnetyczny. Następnie do fiolek b-e dodano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu 2b (IRA) (1 mM w DMSO), po czym fioleki zatkało. Zawartość fiolek mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej. Następnie wykonano fotografię fiolek po dwóch oraz 24 godzinach mieszania. Wyniki zaprezentowane na *Rysunku 28*.

Badania kinetyczne wpływu środowiska:

Do dwóch kolb miarowych (10 cm^3) dano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu jonów miedzi (1 mM w H_2O). Następnie do jednej kolby dodano 2 cm^3 acetonitrylu, po czym obydwie kolby uzupełniono roztworem 0,1 M PBS. Następnie do każdej kolby dano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu 2b (1 mM w DMSO), po czym zawartość kolb wymieszano. Świeżo przygotowane roztwory niezwłocznie przelano do kuwet UV-VIS z mieszadełkiem i automatycznie zbierano widma

z próbek co 1 minutę w sposób ciągły przez 1 godzinę w temperaturze 50 °C. Wyniki zaprezentowano na *Rysunku 29*.

Badania wpływu pH:

Wartość pH wodnych roztworów ustalano za pomocą skalibrowanego pH-metru, wykorzystując 5 mM roztwory NaOH i HCl. Do badań przygotowano wodne roztwory o pH od 2 do 12, zmieniając wartość pH o 1. Do kolb miarowych (10 cm³) dano po 0,1 cm³ roztworu miedzi (1 mM w H₂O) oraz po 2 cm³ ACN. Następnie kolby uzupełniono kolejno wodnymi roztworami o określonym pH. Na końcu do kolb dodano po 0,1 cm³ roztworu 2b (1 mM w DMSO), po czym roztwory dokładnie wymieszano. Badania absorpcji wykonano po dwóch godzinach od przygotowania roztworów. Pomiary wykonano dla każdego pH wodnego roztworu, a wyniki zaprezentowano na *Rysunku 30*.

Badanie selektywności metody oznaczania

Do badań selektywności pochodnej IRA (2b) wykorzystano roztwory metali (1mM) przygotowane w 4.5.2. Wykonano dwa eksperymenty świadczące o wysokiej selektywności metody, sprawdzając wpływ każdego kationu z osobna oraz wszystkie kationy razem.

I metoda: Badanie wpływu pojedynczego kationu na przebieg oznaczania.

Wykonano roztwory poprzez pobranie do kolb miarowych (10 cm³) po 0,1 cm³ wodnych roztworów miedzi (1 mM w H₂O) oraz kolejno jednego badanego kationu (1 mM w H₂O). Kolby miarowe uzupełniono mieszaniną PBS/ACN (80% PBS, v/v). Następnie do kolbek dodano po 0,1 cm³ roztworu IRA (1 mM w DMSO), wymieszano i pozostawiono na 2 godziny. Po tym czasie dokonano pomiaru absorbancji. Pomiary wykonano dla każdego kationu z osobna, których wyniki zostały omówione w Podrozdziale 3.8.1.2.

II metoda: Badanie wpływu wszystkich kationów na przebieg oznaczania – badania kinetyczne.

Sporządzono roztwór poprzez pobranie do kolby miarowej (10 cm^3) po $0,1\text{ cm}^3$ wodnych roztworów każdego badanego kationu (1 mM w H_2O) oraz $0,3\text{ cm}^3$ roztworu miedzi (1 mM w H_2O). Kolbę miarową uzupełniono mieszaniną PBS/ACN (80% PBS, v/v). Następnie do kolbki dodano $0,1\text{ cm}^3$ roztworu IRA (1 mM w DMSO), wymieszano a następnie wykonano pomiar kinetyczny, dokonując automatycznego skanu próbki co 2 minuty przez 2 godziny. Otrzymane wyniki omówiono w Podrozdziale 3.8.1.2.

Badanie wpływu stężenia miedzi na oznaczenie

Badanie wpływu stężenia miedzi przeprowadzono w układzie PBS/ACN (80% PBS, v/v) dla 12 próbek o różnej zawartości miedzi (określonych losowo przez dodanie ilości roztworu soli w sposób wzrastający, 0 do 20 równoważników). W tym celu przygotowano kolby miarowe (10 cm^3), do których wprowadzono po 2 cm^3 ACN oraz kolejno odpowiednią ilość roztwór miedzi (1 mM w H_2O). Następnie kolby dopełniono $0,1\text{ M}$ roztworem PBS. Do tak przygotowanych układów dodano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu 2b (1 mM w DMSO), po czym kolby zatkano i wymieszano. Pomiary absorpcji wykonano w temperaturze pokojowej po 2 godzinach od momentu sporządzenia roztworów. Otrzymane wyniki omówiono w Podrozdziale 3.8.1.3.

Oznaczanie miedzi w próbce wody

Do trzech kolb miarowych (10 cm^3) dano po 3 cm^3 roztworów wody destylowanej oraz kolejno $0,05$; $0,1$; $0,2\text{ cm}^3$ roztworu jonów miedzi (1 mM w H_2O). Do czwartej kolby miarowej (10 cm^3) dodano 3 cm^3 badanej wody kranowej. Wszystkie cztery kolby uzupełniono roztworem ACN/PBS (80% $0,1\text{ M}$ PBS, v/v). Na koniec do każdej kolby dodano po $0,1\text{ cm}^3$ roztworu azometyny 2b (1 mM w DMSO), po czym zawartość kolb wymieszano. Świeżo przygotowane roztwory niezwłocznie przelano do czterech czystych fiolek z mieszadełkiem, po czym filoki zamknięto i umieszczono na mieszadle magnetycznym nagrzanym do temperatury $50\text{ }^\circ\text{C}$. Reakcję obserwowano przez 45 minut, wykonując

fotografię fioletów po każdym 5 minutach mieszania. Część roztworu pobrano do kuwet UV-VIS i mierzono widma w sposób ciągły, co 1 minutę przez 45 minut w temperaturze 50 °C. Wyniki zaprezentowano na *Rysunku 33*.

4.5.2.2. Oznaczenie miedzi w acetonitrylu

W celu oznaczenia ilości miedzi w acetonitrylu przygotowano na wstępie 0,1 mM roztwory azometyny 2b oraz soli metali takich jak: Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} i Zn^{2+} . Roztwory te przygotowano w wyniku rozpuszczenia odpowiedniej naważki w acetonitrylu (w kolbie miarowej 10 cm³). Następnie poprzez rozcieńczenie 0,01 cm³ 0,1 mM roztworu miedzi w kolbie miarowej 100 cm³ otrzymano 0,01 μM roztwór miedzi. Na koniec przygotowano 1 nM roztwór miedzi, za pomocą rozcieńczenia 1 cm³ 0,01 μM roztworu miedzi w kolbie miarowej 10 cm³.

Miareczkowanie fluorescencyjne

Miareczkowanie fluorescencyjne wykonano przy użyciu 24 roztworów o różnym stężeniu miedzi (0,1 – 3,8 μM). Do kolb miarowych (10 cm³) wprowadzono kolejno 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,10; 0,12; 0,14; 0,16; 0,18; 0,20; 0,22; 0,24; 0,26; 0,28; 0,30; 0,32; 0,34; 0,36; 0,38 cm³ wcześniej przygotowanego roztwór miedzi (0,1 mM w ACN). Następnie kolby dopełniono acetonitrylem i dodano po 0,1 cm³ roztworu 2b (0,1 mM w ACN), po czym kolby zatkało a zawartość kolb wymieszano. Pomiar absorpcji oraz fluorescencji wykonano w temperaturze pokojowej po 2 godzinach od momentu sporządzenia roztworów. Otrzymane wyniki przedstawiono na *Rysunku 34*.

Badanie selektywności metody oznaczania

Do 13 kolb miarowych (10 cm³) dodano po 0,1 cm³ roztworu miedzi (0,1 mM w ACN) oraz kolejno jednego badanego kationu (0,1 mM w ACN). Kolby miarowe uzupełniono acetonitrylem a następnie wprowadzono po 0,1 cm³ roztworu związku 2b (0,1 mM w ACN). Zawartość kolb wymieszano i pozostawiono na 2 godziny. Po tym czasie dokonano pomiaru fluorescencji. Pomiar wykonano dla każdego kationu z osobna, których wyniki zostały zaprezentowane na *Rysunku 35a*.

Określenie granicy wykrywalności

Badania najmniejszej możliwej do oznaczenia ilości miedzi wykonano przy użyciu 5 roztworów o różnej zawartości miedzi (0,1 μM do 0,001 nM). Do pięciu kolb miarowych (10 cm^3) wprowadzono kolejno 0,01 cm^3 roztworu miedzi (0,1 mM w ACN), 1; 0,1; 0,01 cm^3 roztworu miedzi (0,01 μM w ACN) oraz 0,01 cm^3 roztworu miedzi (1 nM w ACN). Następnie kolby dopełniono acetonitrylem i dodano po 0,01 cm^3 roztworu 2b (0,1 mM w ACN), po czym kolby zatkało a zawartość wymieszano. Pomiary fluorescencji wykonano w temperaturze pokojowej po 2 godzinach od momentu sporządzenia roztworów. Otrzymane wyniki pokazano na *Rysunku 35b*.

5. PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania pozwoliły na otrzymanie serii pięciu azometin zawierających układ fenyloetynylofenylowy. Związki te udało się wydzielić w postaci czystych preparatów. Wykonano badania ich właściwości fizykochemicznych tj. optycznych, elektrochemicznych i termicznych. Zakres badań rozszerzono o określenie właściwości kompleksujących oraz biologicznych dla pochodnej 2b.

W ramach pracy przebadano szereg różnych metod syntezy pochodnych azometinowych, obejmujących również zastosowanie katalizatorów heterogenicznych. W toku tych badań w układzie modelowym wyselekcjonowano najlepszą metodę syntezy, w której wykorzystano krzemionkę oraz ultradźwięki. W oparciu o nią przeprowadzono szereg kolejnych kondensacji 4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehydu z różnymi aminami. Otrzymano pięć pochodnych iminowych, których strukturę potwierdzono metodą ^1H i ^{13}C NMR a czystość określono analizą elementarną. Związki te poddano następnie dalszym badaniom optycznym (absorpcja i fotoluminescencja w roztworze), elektrochemicznym, termicznym (TG, DSC) oraz wykonano obliczenia DFT. Pomiar fotoluminescencji w różnych rozpuszczalnikach wykazał, że wszystkie pochodne w rozpuszczalnikach organicznych nie wykazują fluorescencji, natomiast w środowisku wodnym widoczny był jej wyraźny wzrost. W toku dalszych badań stwierdzono, iż zaobserwowany efekt związany jest z częściową hydrolizą azometin a następnie agregacją powstającego fluorogennego aldehydu (4-(2-fenyloetynylo)-benzaldehyd). Hydrolizę potwierdzono metodą ^1H NMR, pokazując powstanie aldehydu w układzie z dodatkiem wody. W dalszej części badań skupiono się nad związkiem 2b, który jest iminowym analogiem resweratrolu (IRA). Wykonano badania jego właściwości kompleksujących w różnych rozpuszczalnikach (acetonitryl, woda) względem: Al^{3+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sr^{2+} i Zn^{2+} . Badania wykazały dużą selektywność związku względem jonów Cu(II) zarówno w acetonitrylu jak i w wodzie. Rozszerzenie tych badań pozwoliło na opracowanie metody do selektywnego oznaczania miedzi w próbce rzeczywistej wody. Ponadto wykazano liniową zależność pomiędzy stężeniem miedzi w próbce a intensywnością fluorescencji w acetonitrylu. Efekt ten pozwolił na opracowanie metody ilościowego fluorescencyjnego oznaczania miedzi

w próbie przy zastosowaniu pochodnej 2b. Ze względu na istotne znaczenie miedzi w technologiach medycznych związanych z efektami działania patogenów oraz enzymów, efekt ten jest interesujący i wydaje się potencjalnie przydatny w pracach zmierzających do urządzeń pomiarowych, które mogą być przydatne w różnych schorzeniach związanych z nieprawidłowym poziomem miedzi. Ponadto wykonano badania właściwości biologicznych związku 2b (IRA), o-aminofenolu (substrat) oraz kompleksu Cu(II)-2b względem komórek raka prostaty. Efekt cytotoksyczny wykazano tylko dla związku 2b. Pozwoliło to na wyciągnięcie wniosku, że pomimo częściowej hydrolizy azometyny obecność wiązania iminowego jest kluczowa dla wykazania właściwości cytotoksycznych.

6. Bibliografia

- [1] M. Rams-Baron, M. Dulski, A. Mrozek-Wilczkiewicz, M. Korzec, W. Cieslik, E. Spaczyńska, P. Bartczak, A. Ratuszna, J. Polanski, R. Musiol. Synthesis of New Styrylquinoline Cellular Dyes, Fluorescent Properties, Cellular Localization and Cytotoxic Behavior. *PLOS ONE.*, 10 (2015) 1.
- [2] R. W. Layer. The Chemistry of Imines. *Chem. Rev.*, 63 (1963) 489.
- [3] M. C. Mandewale, B. Thorat, U. Patil, R. Yamgar. Review: Synthesis and Applications of Schiff Bases. *IJCPS.*, 3 (2015) 1919.
- [4] K. Joginder, R. Amit, R. Vinit. A Comprehensive Review on the Pharmacological Activity of Schiff Base Containing Derivatives. *Organic & Medicinal Chem II.*, 1 (2017) 001.
- [5] A. M. Abu-Dief, I. M. A. Mohamed. A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 4 (2015) 119.
- [6] K. Sztanke, A. Maziarka, A. Osinka, M. Sztanke. An insight into synthetic Schiff bases revealing antiproliferative activities in vitro. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21 (2013) 3648.
- [7] R. D. Patil, S. Adimurthy. Catalytic Methods for Imine Synthesis. *Asian J. Org. Chem.*, 2 (2013) 726.
- [8] W. Qin, S. Long, M. Panunzio, S. Biondi. Schiff Bases: A Short Survey on an Evergreen Chemistry Tool. *Molecules*, 18 (2013) 12264.
- [9] M. Korzec, S. Kotowicz, R. Rzycka-Korzec, E. Schab-Balcerzak, J. G. Małeck, M. Czichy, M. Łapkowski. Novel β -ketoenamines versus azomethines for organic electronics: characterization of optical and electrochemical properties supported by theoretical studies. *J Mater Sci.*, 55 (2020) 3812.
- [10] Z. Rozwadowski, E. Majewski, T. Dziembowska, P. E. Hansen. Deuterium isotope effects on ^{13}C chemical shifts of intramolecularly hydrogen-bonded Schiff bases. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2 (1999) 2809.
- [11] V. I. Minkin, A. V. Tsukanov, A. D. Dubonosov, V. A. Bren. Tautomeric Schiff bases: Iono-, solvato-, thermo- and photochromism. *Journal of Molecular Structure*, 998 (2011) 179.
- [12] A. Nowicka, H. Liszkiewicz, W. P. Nawrocka. Zasady schiffa – wybrane syntezy, reakcje i aktywność biologiczna; Schiff bases – selected syntheses, reactions and biological activity. *Wiadomości chemiczne*, 68 (2014) 3.
- [13] A. Xavier, N. Srividhya. Synthesis and Study of Schiff base Ligands. *IOSR-JAC.*, 7 (2014) 06.
- [14] M. Ciaccia, S. Di Stefano. Mechanisms of imine exchange reactions in organic solvents. *Org. Biomol. Chem.*, 13 (2015) 646.
- [15] A. Chawla, K. Sukhmandeep, K. Kuldeep, P. Chawla, R. K. Dhawan. A Current Review of Synthesis Methods of Schiff Bases. *SK International Journal of Multidisciplinary Research Hub*, 2 (2015) 10.
- [16] T. Vilaivan, W. Bhanthumnavin, Y. Sritana-Anant. Recent Advances in Catalytic Asymmetric Addition to Imines and Related C=N Systems. *Current Organic Chemistry*, 9 (2005) 1315.
- [17] K. Ravinder, Ravikant. Review on Synthesis and Application of Schiff base and its transition metal complexes. *Res J. Chem. Environ. Sci.*, 2 (2014) 01.

- [18] S. A. Dalia, F. Afsan, Md. S. Hossain, Md. N. Khan, CM Zakaria, Md. Kudrat-E-Zahan, Md. M. Ali. A short review on chemistry of schiff base metal complexes and their catalytic application. *International Journal of Chemical Studies*, 6 (2018) 2859.
- [19] A. Prakash, D. Adhikari. Application of Schiff bases and their metal complexes-A Review. *Int.J. ChemTech Res.*, 3 (2011) 1891.
- [20] K. M. Abuamer, A. A. Maihub, M. M. El-Ajaily, A. M. Etorki, M. M. Abou-Krishna, M. A. Almagani. The Role of Aromatic Schiff Bases in the Dyes Techniques. *International Journal of Organic Chemistry*, 4 (2014) 7.
- [21] K. Brodowska, E. Łodyga-Chruścińska. Zasady Schiffa – interesujący zakres zastosowań w różnych dziedzinach nauki. *CHEMIK*, 68 (2014) 129.
- [22] A. Hameed, M. al-Rashida, M. Uroos, S. A. Ali, K. M. Khan. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 27 (2017) 63.
- [23] P. Anand, V. M. Patil, V. K. Sharma, R. L. Khosa, N. Masand. Schiff bases: A Review on Biological Insights. *International Journal of Drug Design and Discovery*, 3 (2012) 851.
- [24] T. Y. Fonkui, M. I. Ikhile, D. T. Ndinteh, P. B. Njobeh. Microbial activity of some heterocyclic Schiff bases and metal complexes: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 17 (2018) 2507.
- [25] A. Kajal, S. Bala, S. Kamboj, N. Sharma, V. Saini. Schiff Bases: A Versatile Pharmacophore. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Catalysts*, 2013 (2013) 1.
- [26] H. B. Hassib, N. S. Abdel-Kader, Y. M. Issa. Kinetic Study of the Hydrolysis of Schiff Bases Derived from 2-Aminothiophenol. *J Solution Chem.*, 41 (2012) 2036.
- [27] W. A. Al-Masoudi, B. A. Saeed. The hydrolysis of pyridilmonoimines in acidic aqueous media. *Arabian Journal of Chemistry*, 3 (2010) 69.
- [28] K. Li, N. Li, X. Chen, A. Tong. A ratiometric fluorescent chemodosimeter for Cu(II) in water with high selectivity and sensitivity. *Analytica Chimica Acta*, 712 (2012) 115.
- [29] J. M. Hong, H. Y. Kim, H. Park, S.-K. Chang. Cu²⁺-selective colorimetric signaling by sequential hydrolysis and oxidative coupling of a Schiff base. *Tetrahedron Letters*, 56 (2015) 6782.
- [30] O. García-Beltrán, A. Rodríguez, A. Trujillo, A. Cañete, P. Aguirre, S. Gallego-Quintero, M. T. Nuñez, M. E. Aliaga. Synthesis and characterization of a novel fluorescent and colorimetric probe for the detection of mercury (II) even in the presence of relevant biothiols. *Tetrahedron Letters*, 56 (2015) 5761.
- [31] M. H. Lee, H. Lee, M. J. Chang, H. S. Kim, C. Kang, J. S. Kim. A fluorescent probe for the Fe³⁺ ion pool in endoplasmic reticulum in liver cells. *Dyes and Pigments*, 130 (2016) 245.
- [32] J. Wang, Y. Li, K. Li, X. Meng, H. Hou. Highly Selective Turn-On Fluorescent Chemodosimeter for Al(III) Detection through Al(III)-Promoted Hydrolysis of C=N Double Bonds in the 8-Hydroxyquinoline Aldehyde Schiff Base. *Chem. Eur. J.*, 23 (2017) 5081.
- [33] Z. M. Dong, J. N. Wang, W. Wang, J. B. Chao, Y. Wang. Selective optical detection of HSO₄⁻ via hydrolysis of a simple Schiff Base. *Res Chem Intermed.*, 44 (2018) 4001.
- [34] Q. Lin, Y. Cai, Q. Li, B.-B. Shi, H. Yao, Y.-M. Zhang, T.-B. Wei. Fluorescent “turn-on” detecting CN⁻ by nucleophilic addition induced Schiff-base hydrolysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 141 (2015) 113.

- [35] W. Y. Kim, H. Shi, H. S. Jung, D. Cho, P. Verwilst, J. Y. Lee, J. S. Kim. Coumarin-decorated Schiff base hydrolysis as an efficient driving force for the fluorescence detection of water in organic solvents. *Chem. Commun.*, 52 (2016) 8675.
- [36] Y. Yamaguchi, Y. Matsubara, T. Ochi, T. Wakamiya, Z. Yoshida. How the π Conjugation Length Affects the Fluorescence Emission Efficiency. *J. AM. CHEM. SOC.*, 130 (2008) 13867.
- [37] A. Tigreros, A. Ortiz, B. Insuasty. Effect of π -conjugated linkage on photophysical properties: Acetylene linker as the better connection group for highly solvatochromic probes. *Dyes and Pigments*, 111 (2014) 45.
- [38] C. Teng, X. Yang, C. Yang, H. Tian, S. Li, X. Wang, A. Hagfeldt, L. Sun. Influence of Triple Bonds as π -Spacer Units in Metal-Free Organic Dyes for Dye-Sensitized Solar Cells. *J. Phys. Chem. C*, 114 (2010) 11305.
- [39] A. Beeby, K. Findlay, P. J. Low, T. B. Marder. A Re-evaluation of the Photophysical Properties of 1,4-Bis(phenylethynyl)benzene: A Model for Poly(phenyleneethynylene). *J. AM. CHEM. SOC.*, 124 (2002) 8280.
- [40] G. Lizard, N. Latruffe, D. Vervandier-Fasseur. Aza- and Azo-Stilbenes: Bio-Isosteric Analogs of Resveratrol. *Molecules*, 25 (2020) 605.
- [41] C. Li, X. Xu, X. J. Wang, Y. Pan. Imine Resveratrol Analogues: Molecular Design, Nrf2 Activation and SAR Analysis. *PLOS ONE*, 9 (2014) 1.
- [42] J. Lu, C. Li, Y.-F. Chai, D.-Y. Yang, C.-R. Sun. The antioxidant effect of imine resveratrol analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22 (2012) 5744.
- [43] D. C. Zimmermann-Franco, B. Esteves, L. M. Lacerda, I. de Oliveira Souza, J. A. dos Santos, N. de Castro Campos Pinto, E. Scio, A. D. da Silva, G. C. Macedo. In vitro and in vivo anti-inflammatory properties of imine resveratrol analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26 (2018) 4898.
- [44] A. Krysztofiak, V. Krajka-Kuźniak. Kiedy obrona staje się niebezpieczna – czynnik transkrypcyjny Nrf2 a nowotwory. *Postępy Hig Med Dosw.*, 69 (2015) 140.
- [45] P. Kotor, F. Šeršen, J. Filo, D. Loos, J. Gregán, F. Gregán. The Scavenging of DPPH, Galvinoxyl and ABTS Radicals by Imine Analogs of Resveratrol. *Molecules*, 21 (2016) 127.
- [46] E. S. Coimbra, J. A. Santos, L. L. Lima, P. A. Machado, D. L. Campos, F. R. Pavan, A. D. Silva. Synthesis, Antitubercular and Leishmanicidal Evaluation of Resveratrol Analogues. *J. Braz. Chem. Soc.*, 27 (2016) 2161.
- [47] S.-Y. Li, X.-B. Wang, L.-Y. Kong. Design, synthesis and biological evaluation of imine resveratrol derivatives as multi-targeted agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 71 (2014) 36.
- [48] F. J. Martins, M. Senra, C. A. Caneschi, J. A. dos Santos, A. D. da Silva, N. R. B. Raposo. New group of azastilbene analogs of resveratrol: Synthesis, anticandidal activity and toxicity evaluation. *Journal of King Saud University*, 31 (2019) 158.
- [49] P. G. Georgopoulos, A. Roy, M. J. Yonone-Lioy, R. E. Opiekun, P. J. Lioy. Environmental copper: its dynamics and human exposure issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*, 4 (2001) 341.
- [50] World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva : *World Health Organization* (2011) ISBN 978 92 4 154815 1.

- [51] A. A. Taylor, J. S. Tsuji, M. R. Garry, M. E. McArdle, W. L. Goodfellow Jr., W. J. Adams, C. A. Menzie. Critical Review of Exposure and Effects: Implications for Setting Regulatory Health Criteria for Ingested Copper. *Environmental Management*, 65 (2020) 131.
- [52] M. B. Gumpu, S. Sethuraman, U. M. Krishnan, J. B. B. Rayappan. A review on detection of heavy metal ions in water – An electrochemical approach. *Sensors and Actuators B*, 213 (2015) 515.
- [53] Z. Parsaee, P. Haratipour, M. J. Lariche, A. Vojood. A novel high performance nano chemosensor for copper (II) ion based on an ultrasound-assisted synthesized diphenylamine-based Schiff base: Design, fabrication and density functional theory calculations. *Ultrasonics – Sonochemistry*, 41 (2018) 337.
- [54] M. Bost, S. Houdart, M. Oberli, E. Kalonji, J.-F. Huneau, I. Margaritis. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 35 (2016) 107.
- [55] A. Ramdass, V. Sathish, E. Babu, M. Velayudham, P. Thanasekaran, S. Rajagopal. Recent developments on optical and electrochemical sensing of copper(II) ion based on transition metal complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, 343 (2017) 278.
- [56] V. Chandrasekhar, S. Das, R. Yadav, S. Hossain, R. Parihar, G. Subramaniam, P. Sen. Novel Chemosensor for the Visual Detection of Copper(II) in Aqueous Solution at the ppm Level. *Inorg. Chem.*, 51 (2012) 8664.
- [57] L. Liu, F. Dan, W. Liu, X. Lu, Y. Han, S. Xiao, H. Lan. A high-contrast colorimetric and fluorescent probe for Cu^{2+} based on benzimidazole-quinoline. *Sensors and Actuators B*, 247 (2017) 445.
- [58] Z. Ekmekci. Highly selective fluorescence ‘turn-off’ sensors for Cu^{2+} in aqueous environments. *Tetrahedron Letters*, 56 (2015) 1878.
- [59] P. N. Borase, P. B. Thale, G. S. Shankarling. Dihydroquinazolinone based “turn-off” fluorescence sensor for detection of Cu^{2+} ions. *Dyes and Pigments*, 134 (2016) 276.
- [60] Z. Wang, F. Zhou, C. Gui, J. Wang, Z. Zhao, A. Qin, B. Z. Tang. Selective and sensitive fluorescent probes for metal ions based on AIE dots in aqueous media. *J. Mater. Chem. C*, 6 (2018) 11261.
- [61] J. Wang, Q. Zong. A new turn-on fluorescent probe for the detection of copper ion in neat aqueous solution. *Sensors and Actuators B*, 216 (2015) 572.
- [62] J.-J. Xiong, P.-C. Huang, X. Zhou, F.-Y. Wu. A highly selective and sensitive “turn-on” fluorescent probe of Cu^{2+} by p-dimethylaminobenzamide-based derivative and its bioimaging in living cells. *Sensors and Actuators B*, 232 (2016) 673.
- [63] S. W. Cho, A. S. Rao, S. Bhunia, Y. J. Reo, S. Singha, K. H. Ahn. Ratiometric fluorescence detection of Cu(II) with a keto-dipicolylamine ligand: A mechanistic implication. *Sensors & Actuators B: Chemical*, 279 (2019) 204.
- [64] B. Bansod, T. Kumar, R. Thakur, S. Rana, I. Singh. A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. *Biosensors and Bioelectronics*, 94 (2017) 443.
- [65] E. Y. Frag, R. M. Abdel Hameed. Preparation, characterization and electrochemical application of CuNiO nanoparticles supported on graphite for potentiometric determination of copper ions in spiked water samples. *Microchemical Journal*, 144 (2019) 110.

- [66] B. High, D. Bruce, M. M. Richter. Determining copper ions in water using electrochemiluminescence. *Analytica Chimica Acta*, 449 (2001) 17.
- [67] M. Korzec, P. Bartczak, A. Niemczyk, J. Szade, M. Kapkowski, P. Zenderowska, K. Balin, J. Lelątko, J. Polanski. Bimetallic nano-Pd/PdO/Cu system as a highly effective catalyst for the Sonogashira reaction. *Journal of Catalysis*, 313 (2014) 1.
- [68] H. Yamakoshi, A. Palonpon, K. Dodo, J. Ando, S. Kawata, K. Fujita, M. Sodeoka. A sensitive and specific Raman probe based on bisarylbutadiyne for live cell imaging of mitochondria. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25 (2015) 664.
- [69] A. Sagadevan, P.-C. Lyu, K. C. Hwang. Visible-light-activated copper(I) catalyzed oxidative Csp–Csp cross-coupling reaction: efficient synthesis of unsymmetrical conjugated diynes without ligands and base. *Green Chem.*, 18 (2016) 4526.
- [70] X. Deng, M. Song. Synthesis, antibacterial and anticancer activity, and docking study of aminoguanidines containing an alkynyl moiety. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35 (2020) 354.
- [71] X. Nie, G. Wang. Synthesis and Self-Assembling Properties of Diacetylene-Containing Glycolipids. *J. Org. Chem.*, 71 (2006) 4734.
- [72] M. Yu, J. K.-H. Wong, C. Tang, P. Turner, M. H. Todd, P. J. Rutledge. Efficient deprotection of F-BODIPY derivatives: removal of BF₂ using Brønsted acids. *Beilstein J. Org. Chem.*, 11 (2015) 37.
- [73] G. P. Shevchenko, I. Yu. Piskunovich, V. A. Zhuravkov, Yu. V. Bokshits. Synthesis, Morphology, and Optical Properties of CuI Microcrystals. *Inorganic Materials*, 48 (2012) 630.
- [74] I. Kim, D. J. Lee. Electrically Conducting Polymers From Phenylacetylene Substituted Schiff's Base Monomers. *Synthetic Metals*, 69 (1995) 25.
- [75] L. Zhang, R. Zhang, M. Gao, X. Zhang. Facile synthesis of thiol and alkynyl contained SERS reporter molecular and its usage in assembly of polydopamine protected bioorthogonal SERS tag for live cell imaging. *Talanta*, 158 (2016) 315.
- [76] K. Worrall, B. Xu, S. Bontemps, B. A. Arndtsen. A Palladium-Catalyzed Multicomponent Synthesis of Imidazolinium Salts and Imidazolines from Imines, Acid Chlorides, and Carbon Monoxide. *J. Org. Chem.*, 76 (2011) 170.
- [77] J. A. Carr, T. F. Al-Azemi, T. E. Long, J.-Y. Shim, C. M. Coates, E. Turos, K. S. Bisht. Lipase-catalyzed resolution of 4-aryl-substituted β -lactams: effect of substitution on the 4-aryl ring. *Tetrahedron*, 59 (2003) 9147.
- [78] K. Mounika, B. Anupama, J. Pragathi, C. Gyanakumari. Synthesis, Characterization and Biological Activity of a Schiff Base Derived from 3-Ethoxy Salicylaldehyde and 2-Amino Benzoic acid and its Transition Metal Complexes. *J. Sci. Res.*, 2 (2010) 513.
- [79] S. Bhagat, N. Sharma, T. S. Chundawat. Synthesis of Some Salicylaldehyde-Based Schiff Bases in Aqueous Media. *Journal of Chemistry*, 2013 (2013) 1.
- [80] Z. Yang, P. Sun. Compare of three ways of synthesis of simple Schiff base. *Molbank*, 1 (2006) 1.
- [81] J. Schmeyers, F. Toda, J. Boyb, G. Kaupp. Quantitative solid–solid synthesis of azomethines. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1 (1998) 989.
- [82] A. Mobinikhaledi, N. Forughifar, M. Kalhor. An efficient synthesis of Schiff bases containing benzimidazole moiety catalyzed by transition metal nitrates. *Turk J Chem.*, 34 (2010) 367.

- [83] S. J. Wadher, N. A. Karande, D. S. Borkar, P. G. Yeole. Synthesis and biological evaluation of schiff bases of cinchophen as antimicrobial agents. *Int.J. ChemTech Res.*, 1 (2009) 1297.
- [84] S. Chacko, S. Samanta. A novel approach towards design, synthesis and evaluation of some Schiff base analogues of 2-aminopyridine and 2-aminobezothiazole against hepatocellular carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89 (2017) 162.
- [85] K. P. Guzen, A. S. Guarezemini, A. T. G. Orfao, R. Cella, C. M. P. Pereira, H. A. Stefani. Eco-friendly synthesis of imines by ultrasound irradiation. *Tetrahedron Letters*, 48 (2007) 1845.
- [86] J.-Y. Tong, N.-B. Sun, H.-K. Wu. Grinding Synthesis of Schiff Bases Combined with Infrared Irradiation. *Asian Journal of Chemistry*, 25 (2013) 5399.
- [87] H. Mehrabi, A. Mohebbi. A one-pot synthesis of highly substituted tetrahydropyridines from N-benzylidenemethanamines, dialkyl acetylenedicarboxylates and benzylidenemalononitriles. *ARKIVOC.*, 1 (2016) 89.
- [88] S. Patil, S. D. Jadhav, U. P. Patil. Natural Acid Catalyzed Synthesis of Schiff Base under Solvent-free Condition: As a Green Approach. *Arch. Appl. Sci. Res.*, 4 (2012) 1074.
- [89] H. Naeimi, F. Salimi, K. Rabiei. Mild and convenient one pot synthesis of Schiff bases in the presence of P_2O_5/Al_2O_3 as new catalyst under solvent-free conditions. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 260 (2006) 100.
- [90] O. Younis, E. E. El-Katori, R. Hassanien, A. S. Abousalem, O. Tsutsumi. Luminescent coatings: White-color luminescence from a simple and single chromophore with high anticorrosion efficiency. *Dyes and Pigments*, 175 (2020) 108146.
- [91] E. Ali, M. R. Naimi-Jamal, M. G. Dekamin. Highly efficient and rapid synthesis of imines in the presence of nano-ordered MCM-41- SO_3H heterogeneous catalyst. *Scientia Iranica C*, 20 (2013) 592.
- [92] G. Chen, H. Ma, W. Xin, X. Li, F. Jin, J. Wang, M. Liu, Y. Dong. Dual Heterogeneous Catalyst Pd-Au@Mn(II)-MOF for One-Pot Tandem Synthesis of Imines from Alcohols and Amines. *Inorg. Chem.*, 56 (2017) 654.
- [93] W. Cui, B. Zhaorigetu, M. Jia, W. Ao, H. Zhu. Synthesis of imines from amines in aliphatic alcohols on Pd/ZrO₂ catalyst under ambient conditions. *RSC Adv.*, 4 (2014) 2601.
- [94] S. Chandra, A. Kumar. Recyclable copper nanoparticles: Efficient catalyst for selective cyclization of Schiff bases. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20 (2016) 367.
- [95] A. Hasaninejad, A. Zare, H. Sharghi, M. Shekouhy. P_2O_5/SiO_2 an efficient, green and heterogeneous catalytic system for the solvent-free synthesis of N-sulfonyl imines. *ARKIVOC.*, 11 (2008) 64.
- [96] M. Gopalakrishnan, P. Sureshkumar, V. Kanagarajan, J. Thanusu, R. Govindaraju. Silica gel supported sodium hydrogen sulfate as an efficient and reusable heterogeneous catalyst for the synthesis of imines in solvent-free conditions under microwave irradiation. *Journal of Chemical Research*, 1 (2005) 299.
- [97] I. A. Rahman, V. Padavettan. Synthesis of Silica Nanoparticles by Sol-Gel: Size-Dependent Properties, Surface Modification, and Applications in Silica-Polymer Nanocomposites—A Review. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanomaterials*, 2012 (2012) 8.
- [98] S. Azimi, M. R. S. Moghadam. Synthesis and Characterization of the Pd/SiO₂ Nanocomposite by the Sol-Gel Method. *Nanoscience and Nanoengineering*, 1 (2013) 94.

- [99] D. S. Bae, E. J. Kima, K. S. Hana. Synthesis and characterization of Pd/SiO₂ composite membranes by a reverse micelle and sol-gel process. *Journal of Ceramic Processing Research*, 6 (2005) 138.
- [100] Z. Li, L. Zhang, M. Nishiura, Z. Hou. Copper-Catalyzed Umpolung of Imines through Carbon-to-Nitrogen Boryl Migration. *ACS Catal.*, 9 (2019) 4388.
- [101] D. Şenol, F. Kolcu, İ. Kaya. Synthesis, Characterization, Electrical Conductivity and Fluorescence Properties of Polyimine Bearing Phenylacetylene Units. *J Fluoresc.*, 26 (2016) 1579.
- [102] S. Pratihari. Electrophilicity and nucleophilicity of commonly used aldehydes. *Org. Biomol. Chem.*, 12 (2014) 5781.
- [103] N. Asao, T. Asano, T. Ohishi, Y. Yamamoto. Chelation Control through the Coordination of Lewis Acids to an Acetylenic π -Bond. *J. Am. Chem. Soc.*, 122 (2000) 4817.
- [104] J. Zheng, S. Elangovan, D. A. Valyaev, R. Brousses, V. Cesar, J.-B. Sortais, C. Darcel, N. Lugan, G. Lavigne. Hydrosilylation of Aldehydes and Ketones Catalyzed by Half-Sandwich Manganese(I) N-Heterocyclic Carbene Complexes. *Adv. Synth. Catal.*, 356 (2014) 1093.
- [105] D. Wei, T. Roisnel, C. Darcel, E. Clot, J.-B. Sortais. Hydrogenation of Carbonyl Derivatives with a Well-Defined Rhenium Precatalyst. *ChemCatChem*, 9 (2017) 80.
- [106] V. César, L. C. M. Castro, T. Dombray, J.-B. Sortais, C. Darcel, S. Labat, K. Miqueu, J.-M. Sotiropoulos, R. Brousses, N. Lugan, G. Lavigne. (Cyclopentadienyl)iron(II) Complexes of N-Heterocyclic Carbenes Bearing a Malonate or Imidate Backbone: Synthesis, Structure, and Catalytic Potential in Hydrosilylation. *Organometallics*, 32 (2013) 4643.
- [107] Y. Tokunaga, G. Ohta, Y. Yamauchi, T. Goda, N. Kawai, T. Sugihara, Y. Shimomura. Efficient Synthesis of Rotaxane Based on Complexation of Acetylene and Dicobalt Hexacarbonyl: Introduction of a Transformable Functional Group. *Chemistry Letters*, 35 (2006) 766.
- [108] M. T. Alam, S. Maiti, P. Mal. An Intramolecular C(sp²)-H Amidation Using N-Iodosuccinimide. *Eur. J. Org. Chem.*, 1 (2018) 4178.
- [109] S. Kotowicz, M. Siwy, S. Golba, J. G. Malecki, H. Janeczka, K. Smolarek, M. Szalkowski, D. Sek, M. Libera, S. Mackowski, E. Schab-Balcerzak. Spectroscopic, electrochemical, thermal properties and electroluminescence ability of new symmetric azomethines with thiophene core. *Journal of Luminescence*, 192 (2017) 452.
- [110] G. Bao, K.-L. Wong, P. A. Tanner. A Reversible Rhodamine B Based pH Probe with Large Pseudo-Stokes Shift. *ChemPlusChem*, 84 (2019) 816.
- [111] D. Chao, T.-X. Liu, N. Ma, P. Zhang, Z. Fu, J. Ma, Q. Liu, F. Zhang, Z. Zhang, G. Zhang. Silver(I)-mediated three-component annulation reaction of [60]fullerene, sulfonylhydrazones, and nitriles: leading to diverse disubstituted [60]fullerene-fused dihydropyrroles. *Chem. Commun.*, 52 (2016) 982.
- [112] T. Yanai, D. P. Tew, N. C. Handy. A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chem. Phys. Lett.*, 393 (2004) 51.
- [113] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R.

- Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, D. J. Fox. Gaussian 16, Revision B.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT. (2016).
- [114] B. Mennucci, E. Cancès, J. Tomasi. Evaluation of Solvent Effects in Isotropic and Anisotropic Dielectrics and in Ionic Solutions with a Unified Integral Equation Method: Theoretical Bases, Computational Implementation, and Numerical Applications. *J. Phy Chem. B*, 101 (1997) 10506.
- [115] N. M. O'Boyle, A. L. Tenderholt, K. M. Langner. cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms. *J. Comp. Chem.*, 29 (2008) 839.
- [116] Y. P. Wang, Z. X. Zhang, M. Xie, F. Q. Bai, H. X. Zhang. Theoretical study on thermal cis-to-trans isomerization of BF₂-coordinated azo compounds of the para-substitution with electron donating groups. *Dyes and Pigments*, 129 (2016) 100.
- [117] E. Runge, E. K. U. Gross. Density-functional theory for time-dependent systems. *Phys. Rev. Lett.*, 52 (1984) 997.
- [118] J. Kulhanek, F. Bures, O. Pytela, T. Mikysek, J. Ludvik. Imidazole as a Donor/Acceptor Unit in Charge-Transfer Chromophores with Extended π -Linkers. *Chem. Asian J.*, 6 (2011) 1604.
- [119] X. Qin, G. Ding, Z. Wang, S. Zhang, H. Li, Z. Luo, F. Gao. Remarkable difference between five- and six- number-membered ring transition states for intramolecular proton transfer in excited state. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 339 (2017) 25.
- [120] S. Senkała, M. Korzec, J. Polański. Azometyny z układem fenyl-etynyl-fenyl – synteza i właściwości fizykochemiczne. W: M. Idasz-Balina, M. Drewniak, R. Balina. Nauka i wiedza kluczem do poznania świata. Waleńców : Wydawnictwo Naukowe INTELLECT (2018).
- [121] C. Reichardt. Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators. *Chem. Rev.*, 94 (1994) 2319.
- [122] J. Mei, N. L. C. Leung, R. T. K. Kwok, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang. Aggregation-Induced Emission: Together We Shine, United We Soar!. *Chem. Rev.*, 115 (2015) 11718.
- [123] H. Wang, E. Zhao, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang. AIE luminogens: emission brightened by aggregation. *Materials Today*, 18 (2015) 365.
- [124] L. Mao, Y. Liu, S. Yang, Y. Li, X. Zhang, Y. Wei. Recent advances and progress of fluorescent bio-/chemosensors based on aggregation-induced emission molecules. *Dyes and Pigments*, 162 (2019) 611.
- [125] L. Yan, R. Li, W. Shen, Z. Qi. Multiple-color AIE coumarin-based Schiff bases and potential application in yellow OLEDs. *Journal of Luminescence*, 194 (2018) 151.
- [126] L. Wang, S.Wu, H. Tang, H. Meier, D. Cao. An efficient probe for sensing different concentration ranges of glutathione based on AIE-active Schiff base nanoaggregates with distinct reaction mechanism. *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 273 (2018) 1085.
- [127] X. Wen, Z. Fan. Linear Schiff-base fluorescence probe with aggregation-induced emission characteristics for Al³⁺ detection and its application in live cell imaging. *Analytica Chimica Acta*, 945 (2016) 75.
- [128] B. Pramanik, D. Das. Aggregation-Induced Emission or Hydrolysis by Water? The Case of Schiff Bases in Aqueous Organic Solvents. *J. Phys. Chem. C*, 122 (2018) 3655.

- [129] Z. Peng, Z. Wang, B. Tong, Y. Ji, J. Shi, J. Zhi, Y. Dong. Anthracene Modified by Aldehyde Groups Exhibiting Aggregation-Induced Emission Properties. *Chin. J. Chem.*, 34 (2016) 1071.
- [130] J. Cheng, X. Liang, Y. Cao, K. Guo, W.-Y. Wong. Aldehyde end-capped terthiophene with aggregation-induced emission characteristics. *Tetrahedron*, 71 (2015) 5634.
- [131] N. Meher, S. Panda, S. Kumar, P. K. Iyer. Aldehyde group driven aggregation-induced enhanced emission in naphthalimides and its application for ultradetection of hydrazine on multiple platforms. *Chem. Sci.*, 9 (2018) 3978.
- [132] Q. Wan, M. Liu, L. Mao, R. Jiang, D. Xu, H. Huang, Y. Dai, F. Deng, X. Zhang, Y. Wei. Preparation of PEGylated polymeric nanoprobe with aggregation-induced emission feature through the combination of chain transfer free radical polymerization and multicomponent reaction: Self-assembly, characterization and biological imaging applications. *Materials Science and Engineering C*, 72 (2017) 352.
- [133] K. Guo, Z. Gao, J. Cheng, Y. Shao, X. Lu, H. Wang. Linear thiophene-containing π -conjugated aldehydes with aggregation-induced emission for building solid red luminophors. *Dyes and Pigments*, 115 (2015) 166.
- [134] J. Mei, Y. Wang, J. Tong, J. Wang, A. Qin, J. Z. Sun, B. Z. Tang. Discriminatory Detection of Cysteine and Homocysteine Based on Dialdehyde-Functionalized Aggregation-Induced Emission Fluorophores. *Chem. Eur. J.*, 19 (2013) 613.
- [135] D. L. J. Broere, R. Plessius, J. I. van der Vlugt. New avenues for ligand-mediated processes – expanding metal reactivity by the use of redox-active catechol, o-aminophenol and o-phenylenediamine ligands. *Chem. Soc. Rev.*, 44 (2015) 6886.
- [136] E. Safaei, H. Bahrami, A. Pevec, B. Kozlevcar, Z. Jagličić. Copper(II) complex of new non-innocent O-aminophenol-based ligand as biomimetic model for galactose oxidase enzyme in aerobic oxidation of alcohols. *Journal of Molecular Structure*, 1133 (2017) 526.
- [137] E. Safaei, H. Bahrami, A. Wojtczak, S. Alavi, Z. Jagličić. Redox potential tuning by redox-inactive anions in copper(II) complexes of non-innocent o-aminophenol-based ligand containing benzoxazole: Learning from nature. *Polyhedron*, 122 (2017) 219.
- [138] C. Olmazu, M. Puiu, I. Babaligea, A. Raducan, D. Oancea. Inactivation path during the copper (II) catalyzed synthesis of Questiomycin A from oxidation of 2-aminophenol. *Applied Catalysis A: General*, 447-448 (2012) 74.
- [139] M. Korzec, S. Senkula, R. Rzycka-Korzec, S. Kotowicz, E. Schab-Balcerzak, J. Polański. A highly selective and sensitive sensor with imine and phenyl-ethynyl-phenyl units for the visual and fluorescent detection of copper in water. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 382 (2019) 111893.
- [140] M. Szávuly, R. Csonka, G. Speier, R. Barabás, M. Giorgi, J. Kaizer. Oxidation of 2-aminophenol by iron(III) isoindoline complexes. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 392 (2014) 120.
- [141] S. H. El-Khalafy, M. T. Hassanein, S. E. H. Etaiw, A. S. B. El-Din. Oxidative coupling of 2-aminophenol to 2-amino-phenoxazine-3-one catalyzed by organotin (IV)–copper (I) cyanide coordination polymers as heterogeneous catalysts. *Arabian Journal of Chemistry*, 10 (2017) S2829.
- [142] D. Oancea, M. Puiu. Temperature and pH Effects on the Kinetics of 2-Aminophenol Auto-oxidation in Aqueous Solution. *Central European Journal of Chemistry*, 3 (2003) 233.

- [143] B. Chowdhury, M. Maji, B. Biswas. Catalytic aspects of a copper(II) complex: biological oxidase to oxygenase activity. *J. Chem. Sci.*, 129 (2017) 1627.
- [144] N. C. Jana, M. Patra, P. Brandão, A. Panja. Synthesis, structure and diverse coordination chemistry of cobalt(III) complexes derived from a Schiff base ligand and their biomimetic catalytic oxidation of o-aminophenols. *Polyhedron*, 164 (2019) 23.
- [145] S. Ganguly, P. Kar, M. Chakraborty, A. Ghosh. The first alternating Mn^{II}–Mn^{III} 1D chain: structure, magnetic properties and catalytic oxidase activities. *New J. Chem.*, 42 (2018) 9517.
- [146] A. K. Dhara, U. P. Singh, K. Ghosh. Radical pathways and O₂ participation in benzyl alcohol oxidation, and catechol and o-aminophenol oxidase activity studies with novel zinc complexes: an experimental and theoretical investigation. *Inorg. Chem. Front.*, 3 (2016) 1543.
- [147] A. Lifshitz, C. Tamburu. Thermal Decomposition of Acetonitrile. Kinetic Modeling. *J Chem Kinet.*, 30 (1998) 341.
- [148] R. C. da C. M. Micaroni, M. I. M. S. Bueno, W. de F. Jardim. Degradation of Acetonitrile Residues Using Oxidation Processes. *J. Braz. Chem. Soc.*, 15 (2004) 509.
- [149] T. Yoshihara, S. Murayama, S. Tobita. Ratiometric Molecular Probes Based on Dual Emission of a Blue Fluorescent Coumarin and a Red Phosphorescent Cationic Iridium(III) Complex for Intracellular Oxygen Sensing. *Sensors*, 15 (2015) 13503.
- [150] T. C. Bicak, S. Soylemez, E. Buber, L. Toppare, Y. Yagci. Poly(o-aminophenol) prepared by Cu(II) catalyzed air oxidation and its use as a bio-sensing architecture. *Polym. Chem.*, 8 (2017) 3881.
- [151] F. Geist, A. Jackel, R. F. Winter. Dual ligand-based fluorescence and phosphorescence emission at room temperature from platinum thioxanthonyl complexes. *Dalton Trans.*, 44 (2015) 3974.
- [152] J. Wang, Y. Lu, N. McGoldrick, C. Zhang, W. Yang, J. Zhao, S. M. Draper. Dual phosphorescent dinuclear transition metal complexes, and their application as triplet photosensitizers for TTA upconversion and photodynamic therapy. *J. Mater. Chem. C*, 4 (2016) 6131.
- [153] Z. He, W. Zhao, J. W. Y. Lam, Q. Peng, H. Ma, G. Liang, Z. Shuai, B. Z. Tang. White light emission from a single organic molecule with dual phosphorescence at room temperature. *Nature COMMUNICATIONS*, 8 (2017) 1.
- [154] P. K. Olshin, O. S. Myasnikova, M. V. Kashina, A. O. Gorbunov, N. A. Bogachev, V. O. Kompanets, S. V. Chekalin, S. A. Pulkin, V. A. Kochemirovsky, M. Yu. Skripkin, A. S. Mereshchenko. The electronic spectra and the structures of the individual copper(II) chloride and bromide complexes in acetonitrile according to steady-state absorption spectroscopy and DFT/TD-DFT calculations. *Chemical Physics*, 503 (2018) 14.
- [155] P. D'Angelo, V. Migliorati. Solvation Structure of Zn²⁺ and Cu²⁺ Ions in Acetonitrile: A Combined EXAFS and XANES Study. *J. Phys. Chem. B*, 119 (2015) 4061.
- [156] A. S. Mereshchenko, P. K. Olshin, O. S. Myasnikova, M. S. Panov, V. A. Kochemirovsky, M. Yu. Skripkin, P. N. Moroz, M. Zamkov, A. N. Tarnovsky. Ultrafast Photochemistry of Copper(II) Monochlorocomplexes in Methanol and Acetonitrile by Broadband Deep-UV-to-Near-IR Femtosecond Transient Absorption Spectroscopy. *J. Phys. Chem. A*, 120 (2016) 1833.

- [157] A. Zuber, J. Borowczyk, E. Zimolag, M. Krok, Z. Madeja, E. Pamula, J. Drukala. Poly(L-lactide-co-glycolide) thin films can act as autologous cell carriers for skin tissue engineering. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 19 (2014) 297.
- [158] K. Piwowarczyk, E. Wybieralska, J. Baran, J. Borowczyk, P. Rybak, M. Kosińska, A. J. Włodarczyk, M. Michalik, M. Siedlar, Z. Madeja, J. Dobrucki, K. Reiss, J. Czyż. Fenofibrate enhances barrier function of endothelial continuum within the metastatic niche of prostate cancer cells. *Expert Opin. Ther. Targets*, 19 (2015) 163.
- [159] A. Galanty, P. Koczurkiewicz, D. Wnuk, M. Paw, E. Karnas, I. Podolak, M. Węgrzyn, M. Borusiewicz, Z. Madeja, J. Czyż, M. Michalik. Usnic acid and atranorin exert selective cytostatic and anti-invasive effects on human prostate and melanoma cancer cells. *Toxicology in Vitro*, 40 (2017) 161.
- [160] S. Lutsenko. Human copper homeostasis: a network of interconnected pathways. *Current Opinion in Chemical Biology*, 14 (2010) 211.
- [161] D. Denoyer, S. Masaldan, S. La Fontaine, M. A. Cater. Targeting copper in cancer therapy: 'Copper That Cancer'. *Metallomics*, 7 (2015) 1459.
- [162] A. Boschi, P. Martini, E. Janevik-Ivanovska, A. Duatti. The emerging role of copper-64 radiopharmaceuticals as cancer theranostics. *Drug Discovery Today*, 23 (2018) 1489.
- [163] E. Capasso, S. Durzu, S. Piras, S. Zandieh, P. Knoll, A. Haug, M. Hacker, C. Meleddu, S. Mirzaei. Role of $^{64}\text{CuCl}_2$ PET/CT in staging of prostate cancer. *Ann Nucl Med.*, 29 (2015) 482.
- [164] S. Bakthavatsalam, M. L. Sleeper, A. Dharani, D. J. George, T. Zhang, K. J. Franz. Leveraging γ -Glutamyl Transferase To Direct Cytotoxicity of Copper Dithiocarbamates against Prostate Cancer Cells. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 57 (2018) 12780.
- [165] S. Wang, I. Willenberg, M. Krohn, T. Hecker, S. Meckelmann, C. Li, Y. Pan, N. H. Schebb, P. Steinberg, M. T. Empl. Growth-Inhibiting Activity of Resveratrol Imine Analogs on Tumor Cells In Vitro. *PLoS ONE*, 12 (2017) 1.
- [166] K. M. Yoo, S. Kim, B. K. Moon, S. S. Kim, K. T. Kim, S. Y. Kim, S. Y. Choi. Potent Inhibitory Effects of Resveratrol Derivatives on Progression of Prostate Cancer Cells. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 339 (2006) 238.
- [167] Z. Horvath, S. Marihart-Fazekas, P. Saiko, M. Grusch, M. Özsuy, M. Harik, N. Handler, T. Erker, W. Jaeger, M. Fritzer-Szekeres, B. Djavan, T. Szekeres. Novel Resveratrol Derivatives Induce Apoptosis and Cause Cell Cycle Arrest in Prostate Cancer Cell Lines. *Anticancer Research*, 27 (2007) 3459.
- [168] J. A. Cotruvo, Jr. A. T. Aron, K. M. Ramos-Torres, C. J. Chang. Synthetic fluorescent probes for studying copper in biological systems. *Chem. Soc. Rev.*, 44 (2015) 4400.
- [169] S. Chaiyo, W. Siangproh, A. Apilux, O. Chailapakul. Highly selective and sensitive paper-based colorimetric sensor using thiosulfate catalytic etching of silver nanoplates for trace determination of copper ions. *Analytica Chimica Acta*, 866 (2015) 75.
- [170] M. M. H. Khalil, A. Shahat, A. Radwan, M. F. El-Shahat. Colorimetric determination of Cu(II) ions in biological samples using metal-organic framework as scaffold. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 233 (2016) 272.

- [171] H. Shao, X. Wen, Y. Ding, X. Hong, H. Zhao. Colorimetric determination of copper(II) by using branched-polyethylenimine droplet evaporation on a superhydrophilic-superhydrophobic micropatterned surface. *Microchimica Acta*, 186 (2019) 701.
- [172] M. J. Ahmed, T. Zannat. A Simple Spectrophotometric Method for the Determination of Copper in Some Real, Environmental, Biological, Food and Soil Samples Using Salicylaldehyde Benzoyl Hydrazone. *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 13 (2012) 22.
- [173] A. Zumla, D. S. Hui, E. I. Azhar, Z. A. Memish, M. Maeurer. Reducing mortality from 2019-nCoV: host-directed therapies should be an option. *The Lancet*, 395 (2020) 35.

7. Dorobek Naukowy

I. Publikacje:

1. M. Korzec, R. Rzycka, **S. Senkała**, E. Szpaczyńska, B. Czaplińska, W. Cieślik, A. Mrozek-Wilczkiewicz, M. Rams-Baron, R. Musioł, J. Polański, *Synthesis of quinoline derivatives using a nano-Pd/Cu catalyst in the search of new fluorophores*, Ceska a Slovenska Farmacie 2015, 64, 297-300
2. **S. Senkała**, M. Korzec, J. Polański, *Azometiny z układem fenyl-etynyl-fenyl - synteza i właściwości fizykochemiczne*. Rozdział w monografii: NAUKA I WIEDZA KLUCZEM DO POZNANIA ŚWIATA. str. 88-101, Wydawnictwo Naukowe INTELLECT, Waleńczów, 2018, ISBN: 978-83-950526-4-4.
3. M. Korzec, **S. Senkała**, R. Rzycka-Korzec, S. Kotowicz, E. Schab-Balcerzak, J. Polański, *A highly selective and sensitive sensor with imine and phenyl-ethynyl-phenyl units for the visual and fluorescent detection of copper in water*, Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2019, 382, 111893 (IF=3.261; P_{MNISW}= 70)
4. **S. Senkała**, J. Małecki, M. Vasylieva, A. Łabuz, K. Nosek, K. Piwowarczyk, J. Czyż, E. Schab-Balcerzak, H. Janeczek, M. Korzec, *Hydrolysis of Schiff bases with phenyl-ethynyl-phenyl system: the importance for biological and physicochemical studies*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology (IF=4.067; P_{MNISW}= 100) [w recenzji].

II. Prezentacje na konferencjach:

Prezentacje ustne na konferencjach międzynarodowych:

- 1) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *New fluorophores for live cell imaging – synthesis and properties*, Eurobiotech, Kraków, 11.09.2017r.
- 2) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Pd_{NPS} / Cu synthesis and catalytic properties in the synthesis of 1,3-diynes*, XIX International Student Academic Session: Materials and Technologies of XXI Century, Katowice, 18.05.2017r.

- 3) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Investigation of hydrolysis processes of azomethines in an aqueous environment*, XX International Student Academic Session: Materials and Technologies of XXI Century, Katowice, 17.05.2018r.
- 4) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Synthesis and properties of azomethines in the aquatic environment*, International Scientific Conference On The Dilemmas Of Scientific Research In Different Fields Of Science, Katowice, 28.06.2018r.

Prezentacje ustne na konferencjach krajowych:

- 1) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Otrzymywanie i zastosowanie nowych nanomateriałów w syntezie organicznej*, Ludzie Nauki, Warszawa, 02.09.2017r.
- 2) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Rozpuszczalnikowa i termiczna trwałość nowych azometin*, Młody Erudyta - Nauki Interdyscyplinarne, Kraków, 18.05.2018r.
- 3) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Azometiny z układem fenyl-etynyl-fenyl-synteza i właściwości fizykochemiczne*, Doktorzy i Doktoranci – Prezentacja Tematyki Badawczej lub Przeglądowej, Warszawa, 30.06.2018r.

Prezentacje plakatowe na konferencjach międzynarodowych:

- 1) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Palladium nanoparticles in catalysis as the method of reduction palladium emissions to the environment*, Toxic Substances in the Environment, Kraków, 14.09.2017r.

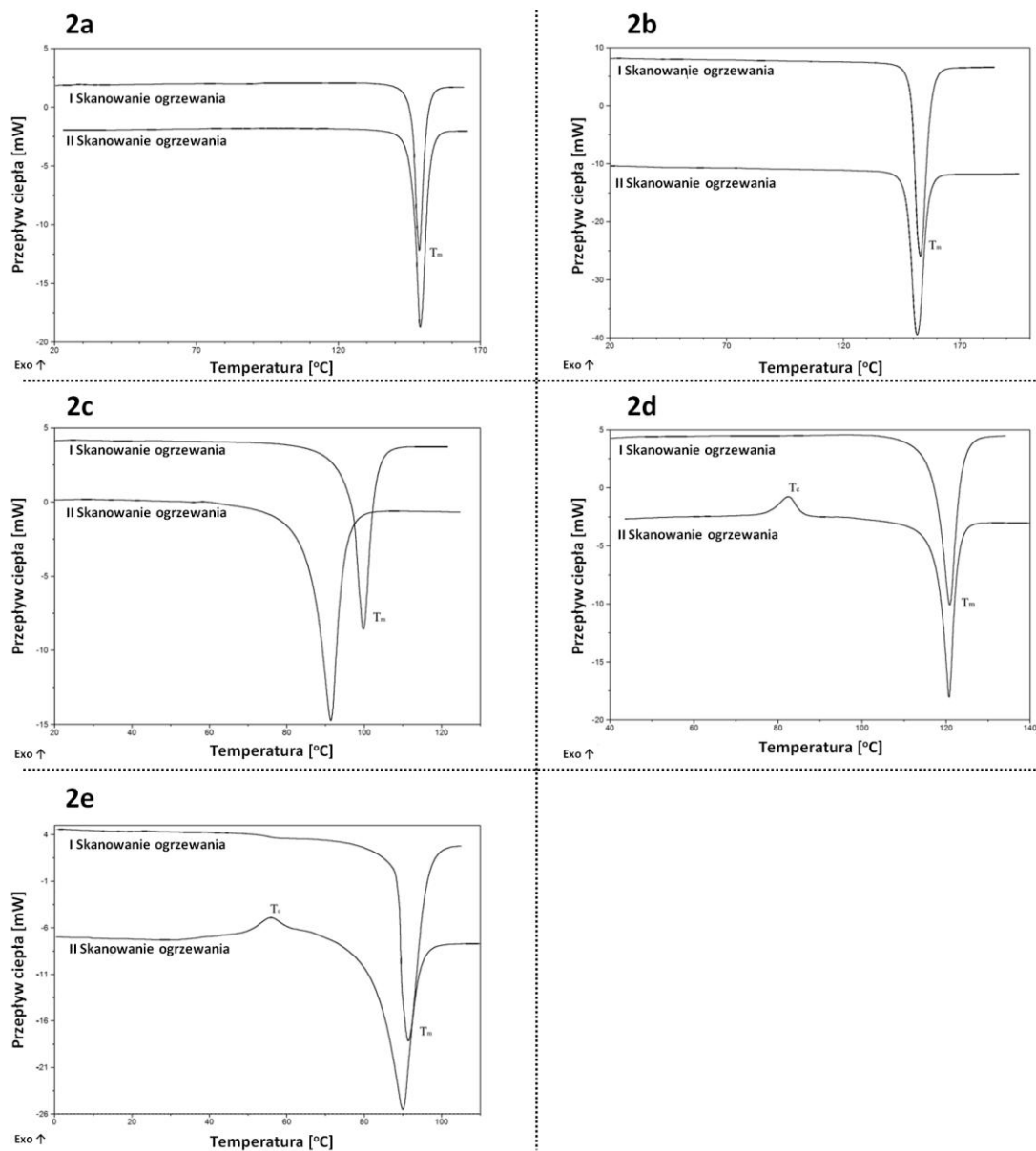
Prezentacje plakatowe na konferencjach krajowych:

- 1) **Sandra Senkała**, Roksana Rzycka, Mateusz Korzec, Jarosław Polański, *Sprzęganie Cadiota-Chodkiewicza - synteza symetrycznych i niesymetrycznych 1,3-diynów oraz analiza ich mieszanin metodą NMR*, Aktualne Problemy Chemii Analitycznej, Katowice 15.05.2015r.
- 2) **Sandra Senkała**, Roksana Rzycka, Mateusz Korzec, Jarosław Polański, *Studies on the Cadiot - Chodkiewicz coupling reaction in heterogeneous system using chromatographic techniques*, The XXXVIII Symposium „Chromatographic methods of investigating the organic compounds”, Szczyrk, 26.05.2015r. - 29.05.2015r.

- 3) **Sandra Senkała**, Roksana Rzycka, Mateusz Korzec, Jarosław Polański, *Synteza symetrycznych i niesymetrycznych 1,3-diynów – Sprzęganie Cadiota-Chodkiewicza*, *Pomiędzy Naukami*, zjazd fizyków i chemików, Chorzów, 18.09.2015r.
- 4) **Sandra Senkała**, Mateusz Korzec, Jarosław Polański, *Synteza symetrycznych i niesymetrycznych 1,3-diynów*, Zimowy Zjazd Sekcji Studenckiej PTChem, Kraków, 5.12.2015r.
- 5) **Sandra Senkała**, Mateusz Korzec, Jarosław Polański, *1,3-diyny – synteza i wykorzystanie we współczesnej chemii*, *Nauka i Biznes czyli dwa przenikające się światy cz.2*, Kraków, 12.12.2015r.
- 6) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Synteza 1,3-diynów metodą Cadiota-Chodkiewicza*, *Pomiędzy Naukami*, zjazd fizyków i chemików, Chorzów, 16.09.2016r.
- 7) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Analiza mieszaniny po reakcji Cadiota-Chodkiewicza metodą spektroskopii NMR*, *Aktualne Problemy Chemii Analitycznej*, Katowice, 12.05.2017r.
- 8) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Nanopallad na nośniku – synteza i zastosowanie*, *Kryształki Molekularne*, Warszawa, 06.09.2017r. – 08.09.2017r.
- 9) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Synteza 1,3-diynów z wykorzystaniem katalizatora Pd/Cu*, *Pomiędzy Naukami*, Chorzów, 15.09.2017r.
- 10) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Kolorymetryczne i fluorescencyjne oznaczanie miedzi przy wykorzystaniu nowej zasady Schiffa*, *Aktualne Problemy Chemii Analitycznej*, Katowice, 11.05.2018r.
- 11) **Sandra Senkała**, Jarosław Polański, *Azometyny z układem fenyl-etynyl-fenyl – synteza i właściwości fizykochemiczne*, *Pomiędzy Naukami*, Chorzów, 14.09.2018r.

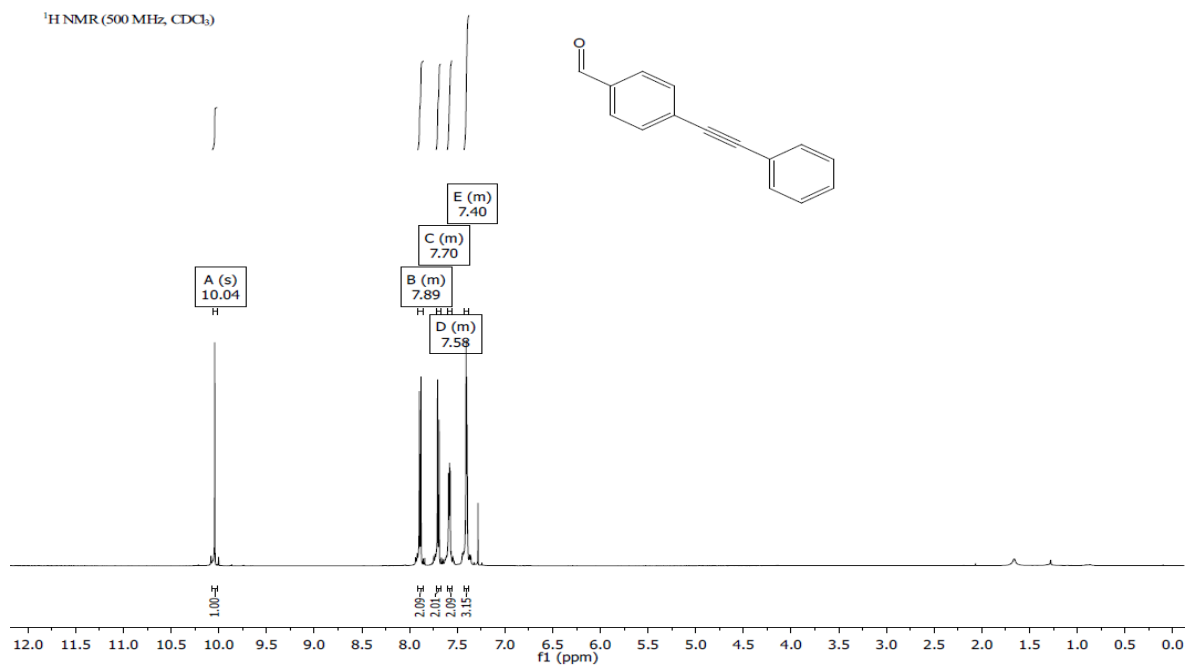
MATERIAŁY UZUPEŁNIAJĄCE

Badania termiczne

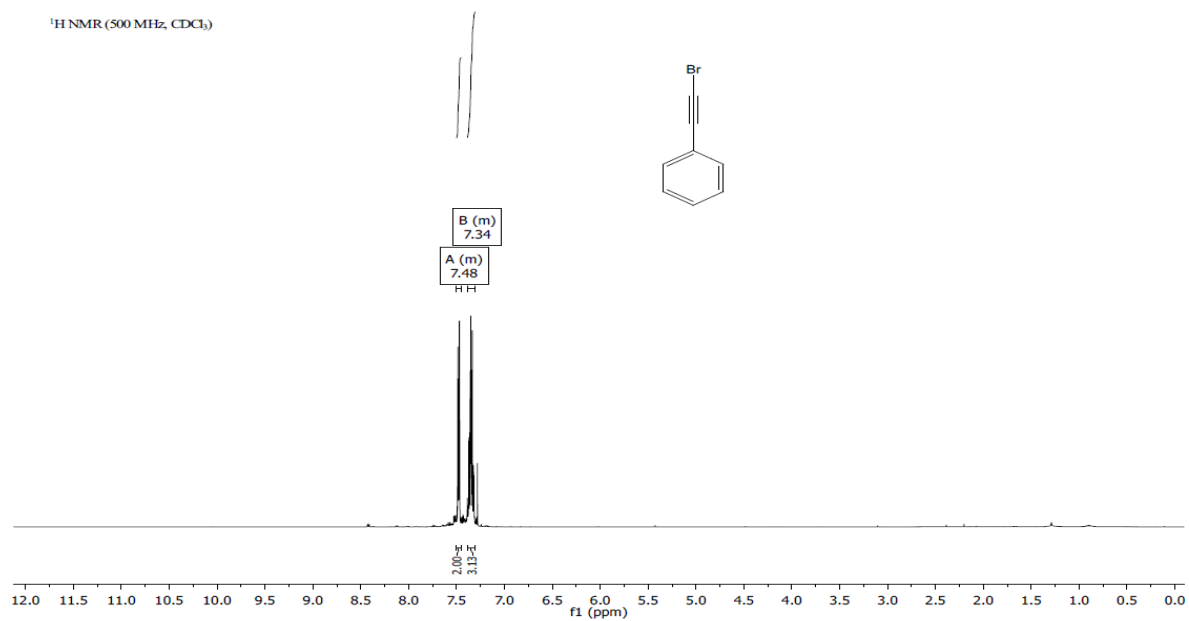


Rys. 37 Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) azometin.

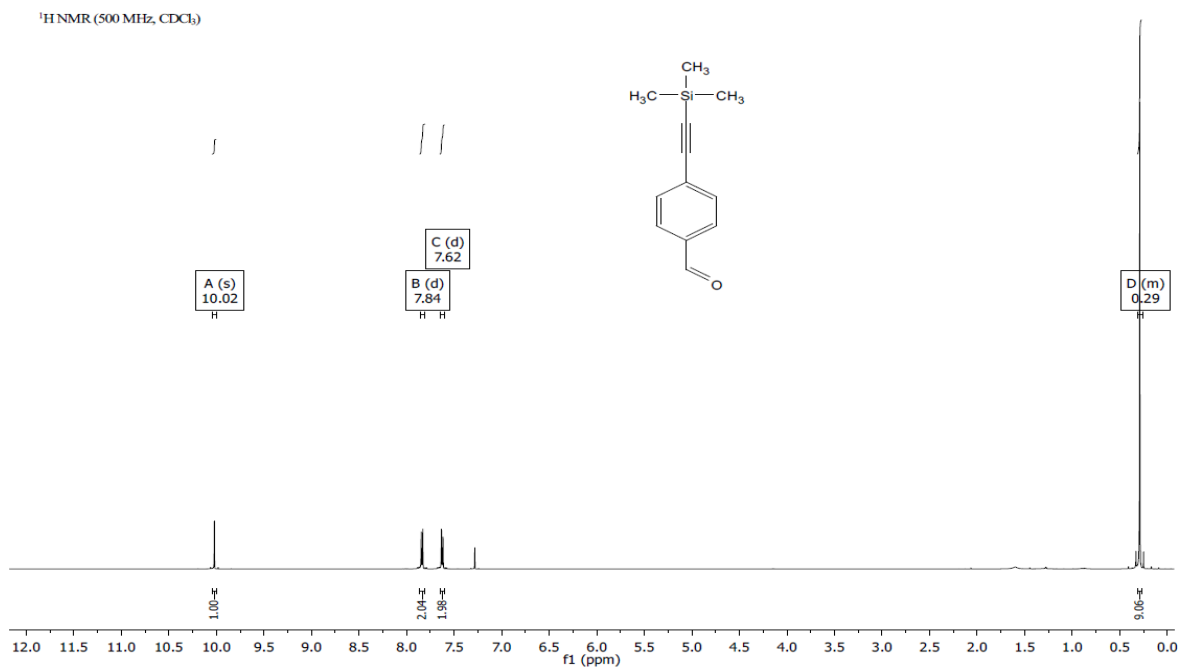
Widma NMR



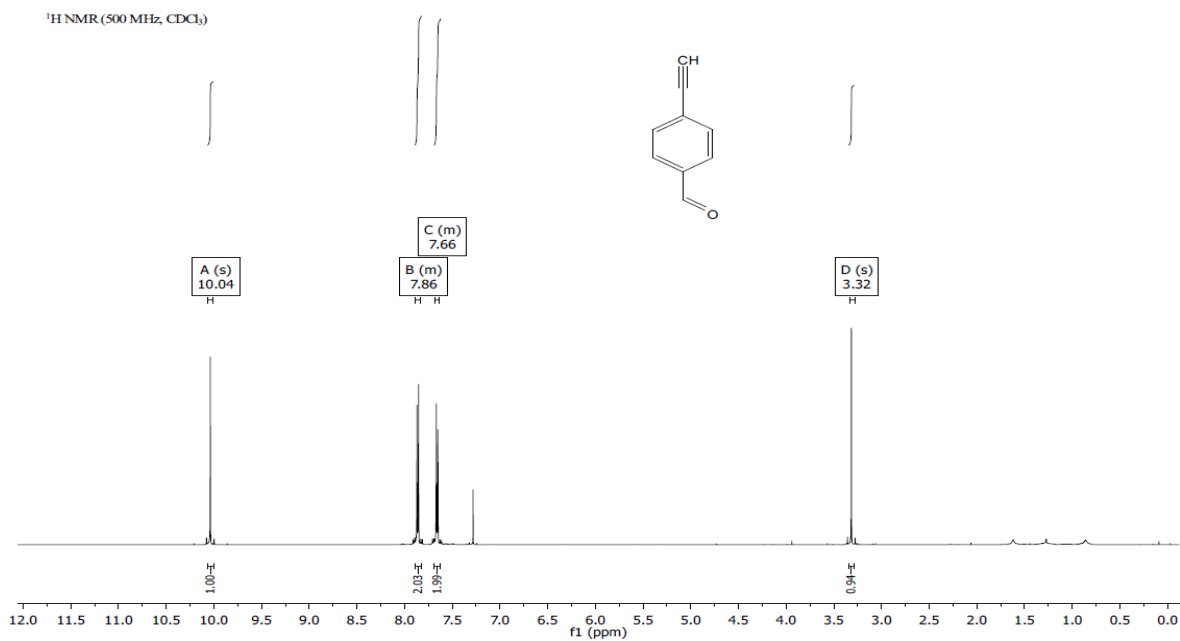
Rys. 38 Widmo ¹H NMR dla 4-(2-fenyletynylo)benzaldehydu (związek 1).



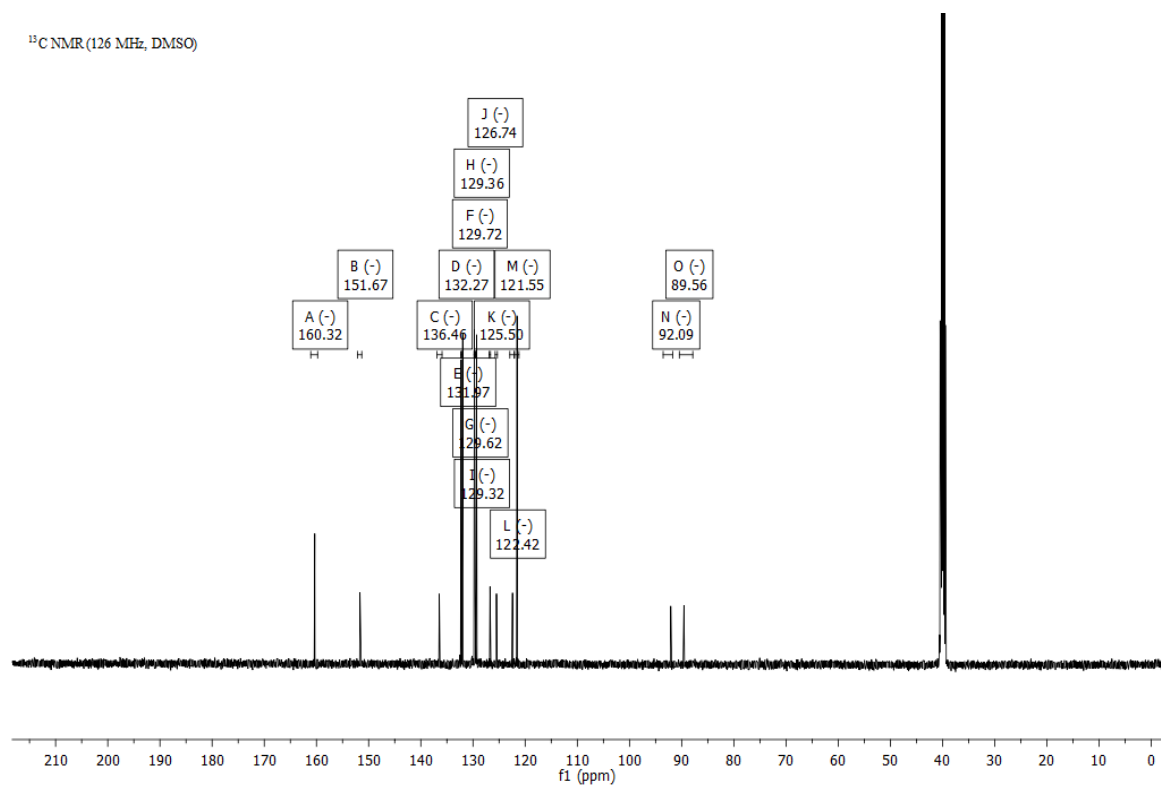
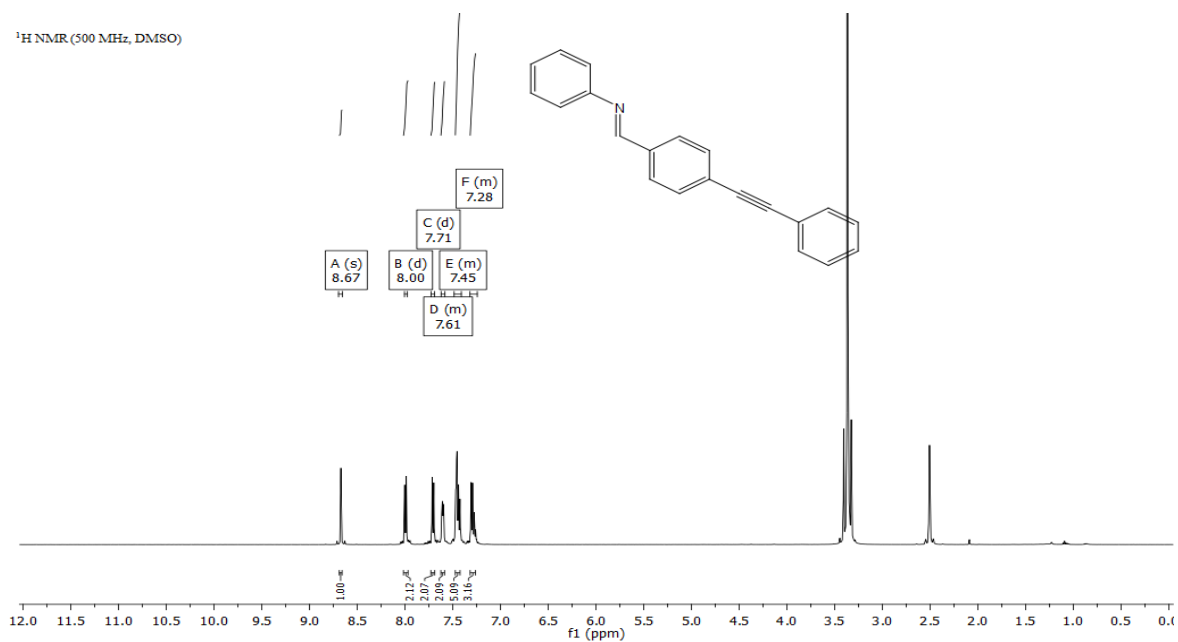
Rys. 39 Widmo ¹H NMR dla 1-bromo-2-fenylacetyleny.



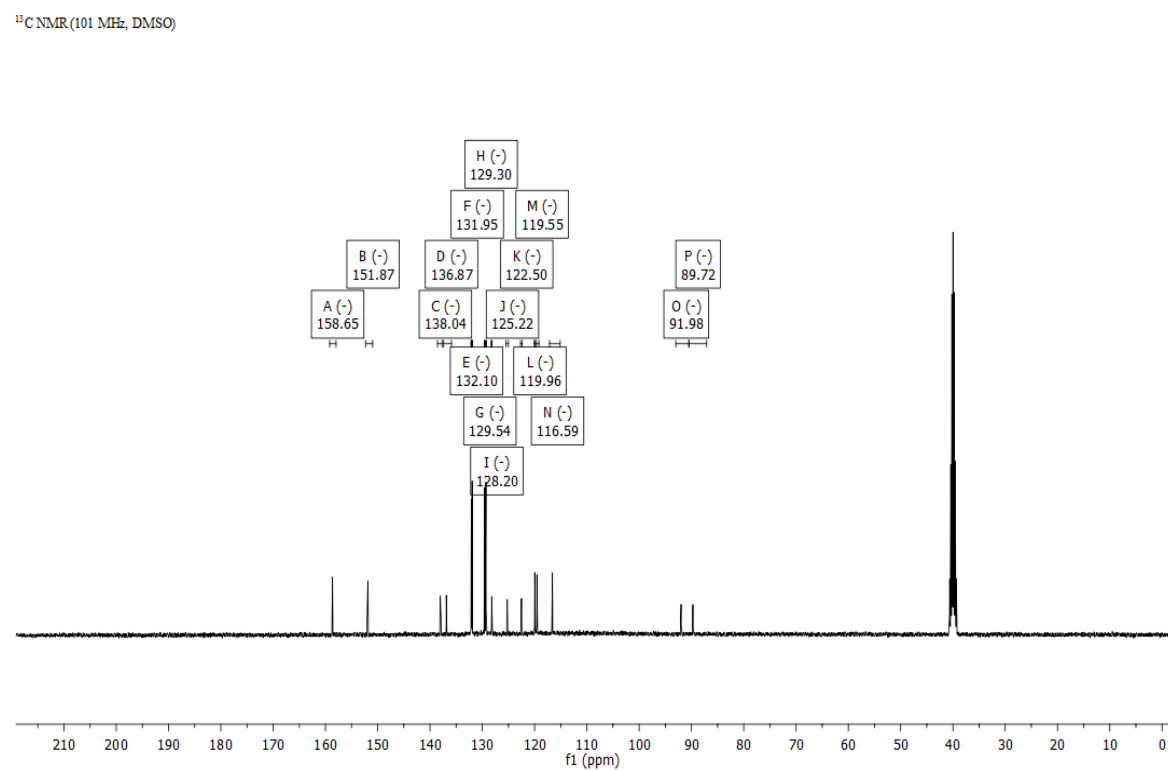
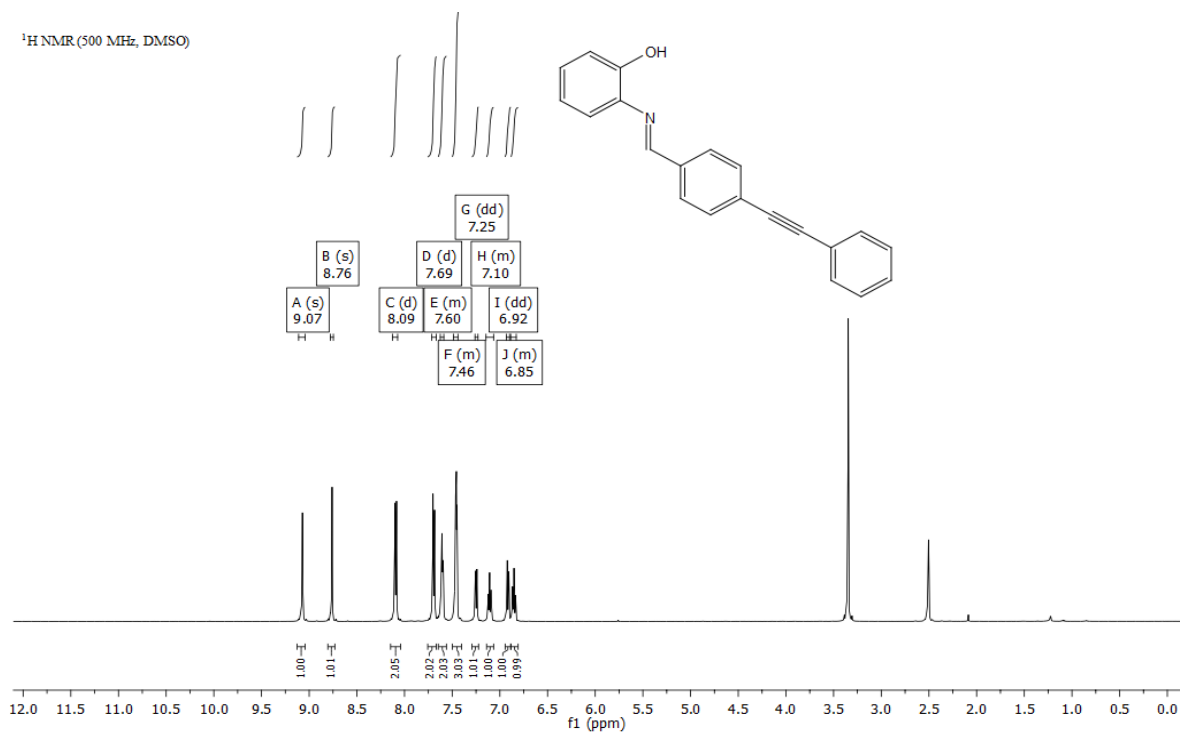
Rys. 40 Widmo ¹H NMR dla 4-[(trimetylosililo)etynylo]benzaldehydu.



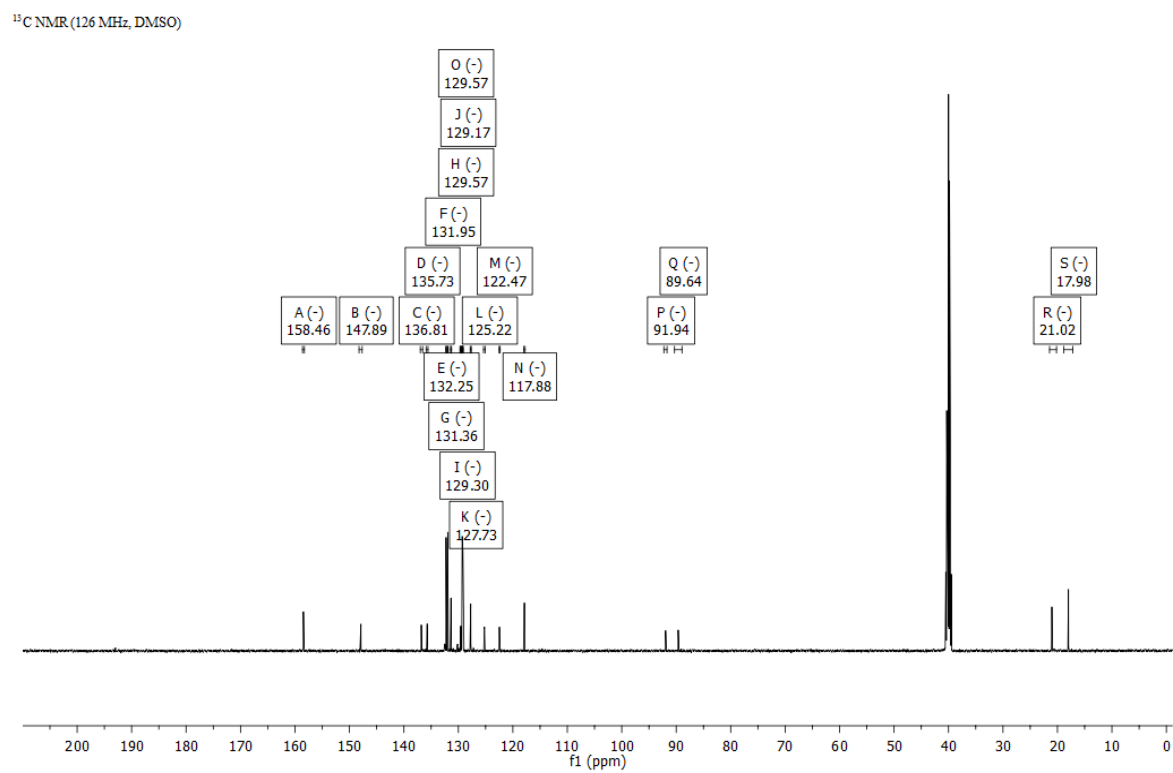
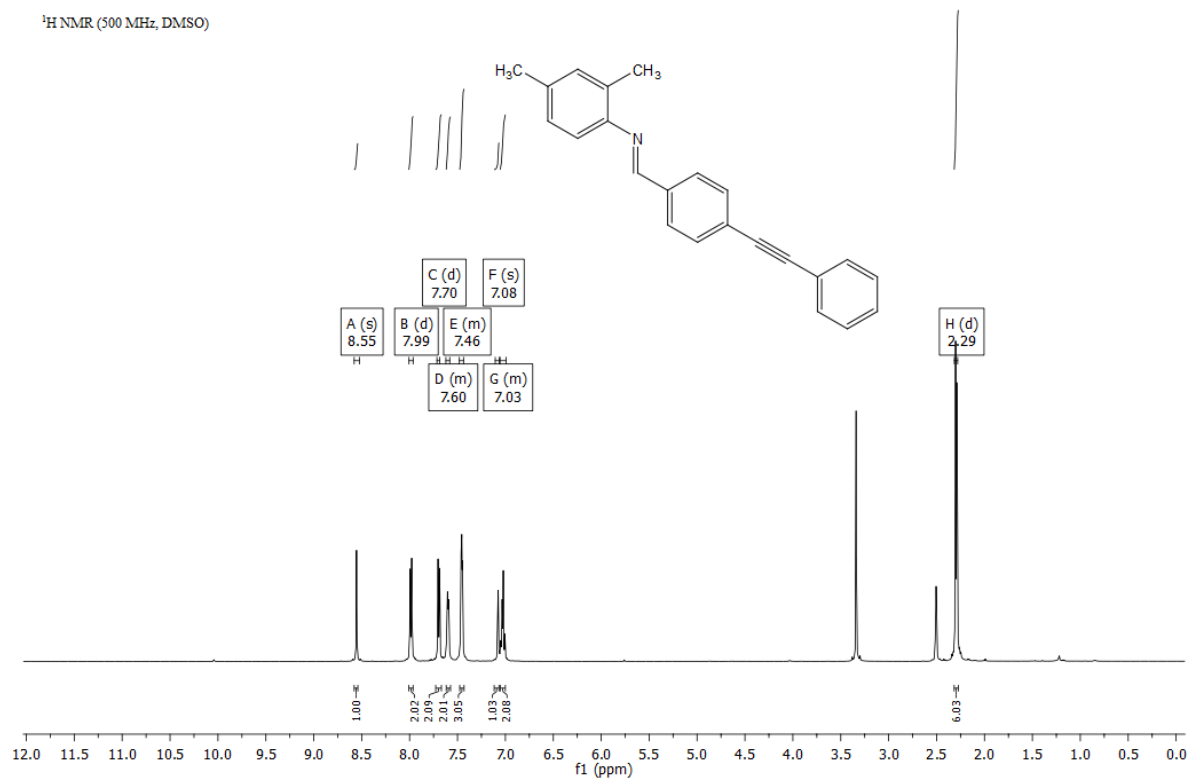
Rys. 41 Widmo ¹H NMR dla p-acetylenobenzaldehydu.



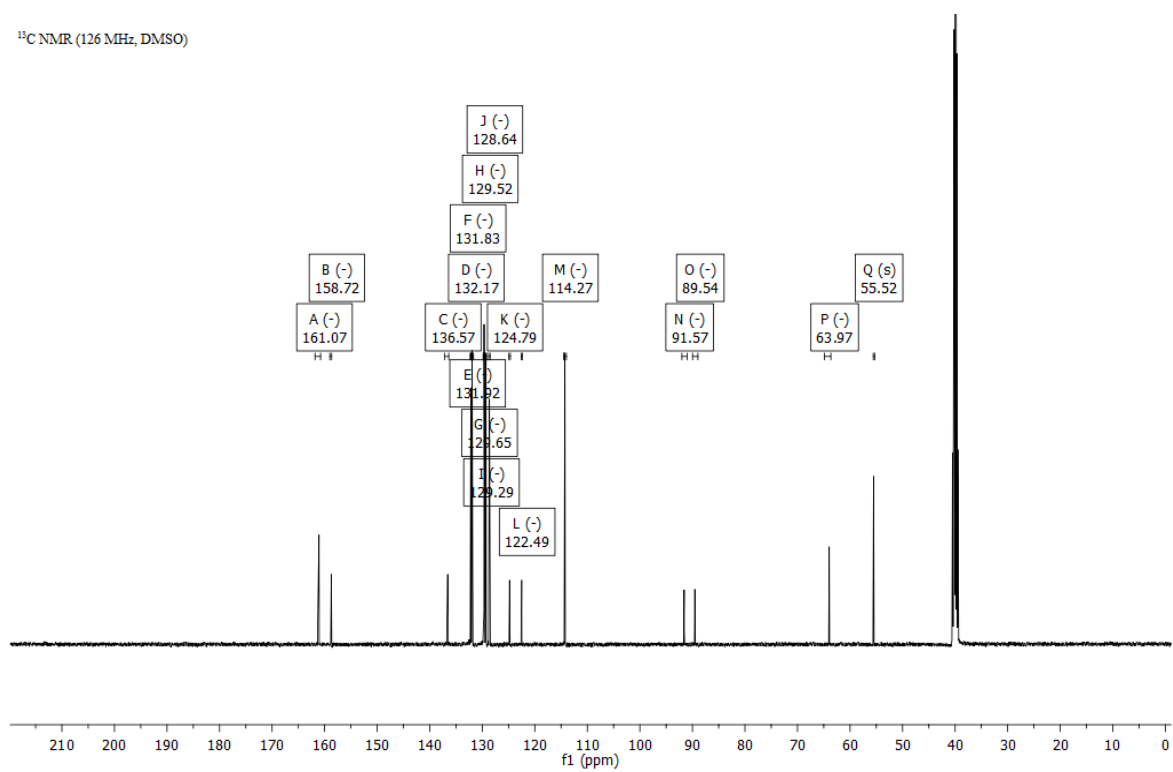
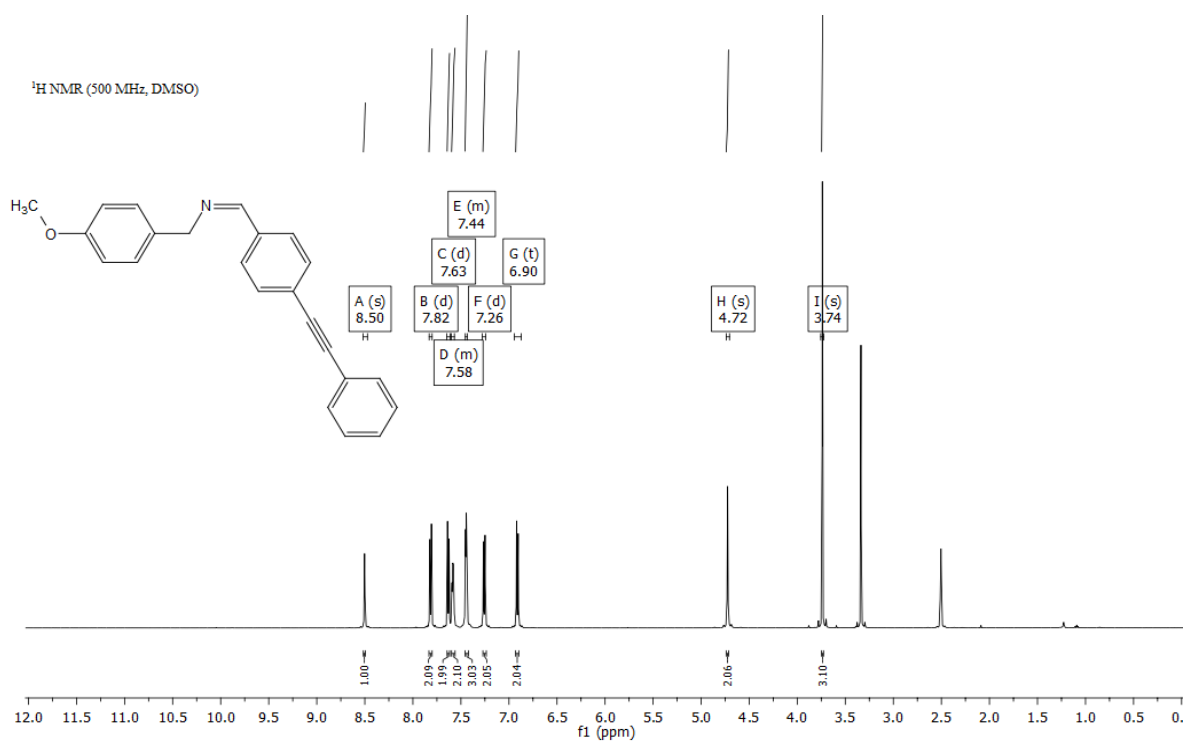
Rys. 42 Widma ¹H NMR i ¹³C NMR dla związku 2a.



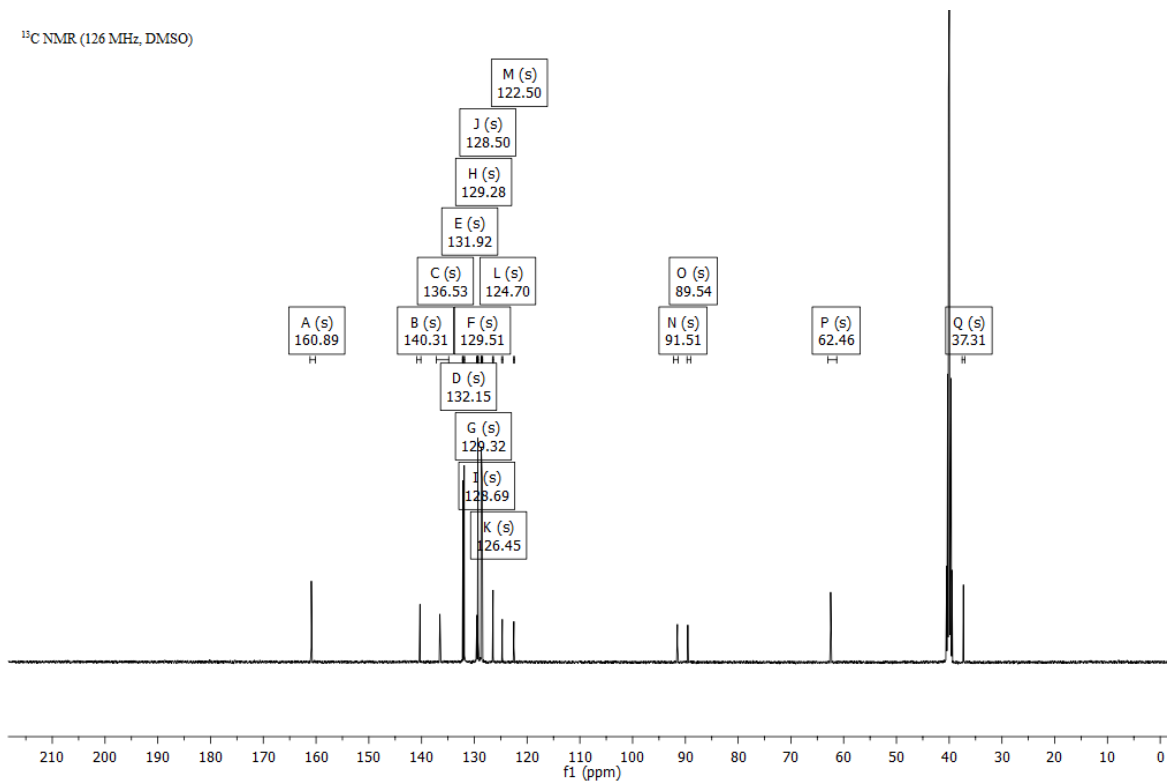
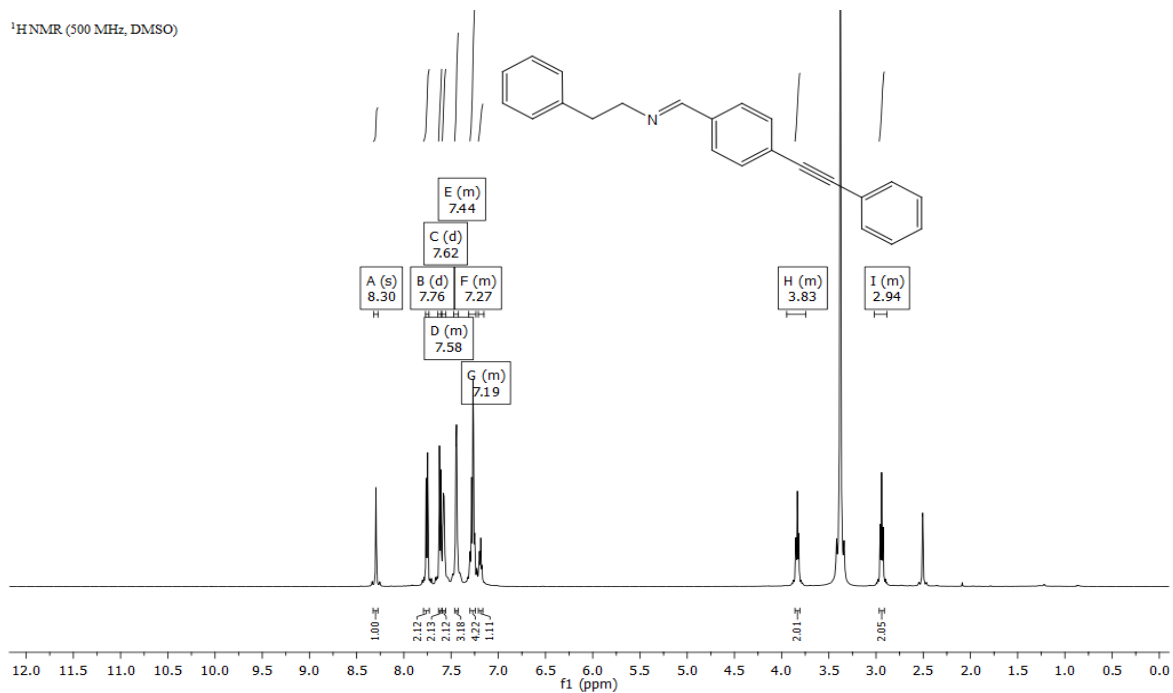
Rys. 43 Widma ¹H NMR i ¹³C NMR dla związku 2b.



Rys. 44 Widma ¹H NMR i ¹³C NMR dla związku 2c.



Rys. 45 Widma ¹H NMR i ¹³C NMR dla związku 2d.



Rys. 46 Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR dla związku 2e.